

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Estratégias energéticas e comportamentais de adaptação à
temperatura no musaranho-comum (*Crocidura russula*)**

Flávio André Gomes Oliveira

Dissertação

Mestrado em Biologia da Conservação

2013

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Estratégias energéticas e comportamentais de adaptação à
temperatura no musaranho-comum (*Crocidura russula*)**

Flávio André Gomes Oliveira

Dissertação

Mestrado em Biologia da Conservação

Orientada pela Prof^ª. Dr^ª. Maria da Luz Mathias (CESAM/FCUL)

2013

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar por agradecer a todas as pessoas que se voluntariaram para vir comigo ao campo apanhar musaranhos. São elas: Ana Poças, Diana Almeida, Pedro David, Gonçalo Martins, Inês Bento, Inês Pacheco, Joana Soares, João Gonçalves, João Messias, José Paula, Luís Peixoto, Pedro Alvito, Rita Ramos, Sara Oliveira, Telma Laurentino e Tiago Brito. Caramba, tive mesmo bastante voluntários! Destes vai um agradecimento especial para o Geodude (Pedro David), que estava comigo no dia em que eu apanhei o meu primeiro *Sorex granarius* na armadilha 1, na zona 1, e para o Pedro Alvito, que teve disponibilidade para me ir ajudar não uma, mas duas vezes no trabalho de campo. Todas estas pessoas tornaram as minhas noites frias e assustadoras na serra de Sintra numa experiência muito mais agradável. Caracóis psicadélicos, pseudo-escorpiões, pirilampos a brilhar em plena escuridão, salamandras ao pontapé, um bufo-real juvenil, *Apodemus* que saltavam para fora do balde foram alguns dos animais mais fascinantes que tive o privilégio de ver. E, claro, não podia deixar passar apanhar musaranhos à chuva e ao vento, o nevoeiro bastante assustador às quatro da manhã, as fofuquices enquanto esperávamos no carro pela próxima ronda, a rapariga muito jeitosa do bar Mourisca que nos servia a janta (uma magnífica tosta mista), e os compadres do café da bomba de gasolina que adoravam falar de futebol e política. Ter a oportunidade de partilhar estas experiências é uma das razões pelo qual jamais me arrependerei de ter escolhido esta área de estudo. Um grande obrigado pela vossa ajuda e companhia! Sem vocês não seria a mesma coisa.

Quero ainda agradecer ao grupo de amigos que me tem feito companhia desde que entrei para a faculdade. Supianós, este parágrafo é dedicado inteiramente a vocês! Poderia escrever uma dissertação inteira a falar de como a minha vida melhorou desde que vocês fazem parte dela. Mas não o vou fazer, não tenho dinheiro para imprimir tanta folha. Em vez disso, apenas quero que saibam que têm um lugar muito especial no meu coração... huh... na minha vida, e que vos estou eternamente agradecido por tudo o que me ensinaram, por todas as aventuras espetaculares que passámos, e por nunca me terem abandonado! O meu sonho é que, no futuro, a minha prole leia este parágrafo quando eu lhes mostrar a minha tese e saiba imediatamente quem são as pessoas de quem eu estou a falar.

Agradeço também à minha família pelo apoio, pela paciência e preocupação, particularmente neste último ano letivo, em que as saídas a Sintra e o trabalho laboratorial tornaram-lhes a vida nada fácil!

Ao Engenheiro Nuno Oliveira e à Dr.^a Inês Moreira dos Parques de Sintra, Monte da Lua, S. A., e ao João Paulo Lopes, do Parque Natural de Sintra-Cascais, agradeço-lhes por me terem proporcionado esta magnífica oportunidade de ir a Monserrate fazer a minha tese. Foi graças a eles que todo este trabalho foi possível!

Por último, e não menos importante, quero agradecer ao meu grupo de trabalho. A começar pela Joana Soares, a minha colega de laboratório, que me ajudou sempre que precisei; a Sofia Gabriela, que me ensinou a defender dos júris maus que gostam de criticar as teses dos mais novos; a Rita Monarca, que me ensinou a trabalhar com o meu primeiro aparelho científico a sério; a Ana Cerveira, pelos conselhos e apoio que me deu durante a tese e pela enorme ajuda que me deu no trabalho de campo; e a Professora Maria da Luz, por ter sido uma excelente orientadora e estar disponível para me atender, esclarecer dúvidas e dar ideias e conselhos para a minha tese sempre que lhe era possível. Por último, um agradecimento muito especial ao Chefe Joaquim Tapisso, por, bem, tudo! Não é qualquer orientador (ainda que não oficialmente) que tem milhões de coisas para fazer, e ainda assim tem tempo para vir ajudar-me no campo, apoiar-me nos momentos mais difíceis, ensinar-me como funciona a verdadeira vida de cientista, ir à faculdade alimentar os animais quando eu não podia, dar-me na cabeça quando eu fazia porcarias (algo que, felizmente, tornou-se cada vez menos frequente), e ainda ajudar-me na escrita da tese. O meu 2º ano de mestrado teria sido muito diferente se ele não estivesse presente nele.

RESUMO

A temperatura ambiente é um dos fatores ecológicos mais importantes na sobrevivência dos micromamíferos. O balanço entre a aquisição e o gasto de energia depende da quantidade de energia investida em diferentes funções, como a termorregulação, o crescimento, a reprodução e o comportamento. Neste estudo investigámos a capacidade termogénica e os padrões de atividade e comportamento em *Crocidura russula* de forma a avaliar a influência destes fatores na adaptação a diferentes temperaturas ambientais. Para tal, capturou-se vários indivíduos na Serra de Sintra que foram divididos em três grupos: um grupo controlo, sujeito durante duas semanas a um período de luz diários de 12 horas e uma temperatura ambiente de 20 °C; um grupo capturado e aclimatizado às condições de inverno; e um grupo capturado e aclimatizado às condições de verão. A comparação destes três grupos experimentais revelou que a taxa metabólica dos animais, apesar de não ter variado, foi superior ao que seria de esperar comparativamente a outros estudos, e a termogénese sem tremor apenas sofreu um ligeiro aumento no inverno. Os animais estiveram mais ativos no verão, mas esta diferença não foi evidente por estar relacionada com as alterações sazonais ambientais que ocorrem, como o fotoperíodo ou a temperatura. Nem a preferência alimentar nem a quantidade de alimento consumido variou entre os grupos, mas os animais passaram mais tempo a alimentar-se quando estavam em atividade no inverno. Os animais também apresentaram diferenças no torpor diário, tendo-se constatado o papel relevante do torpor na conservação de energia. Os resultados revelaram que o *C. russula* possui uma estratégia de conservação energética bastante diferente dos musaranhos da subfamília Soricinae, mais bem estudados atualmente.

Palavras-chave: Crocidurinae, capacidade termogénica, preferência alimentar, procura de alimento, padrão de atividade, torpor, Serra de Sintra.

ABSTRACT

Ambient temperature is one of the most important ecological factors in the survival of small mammals. The balance between acquisition and expenditure of energy depends on the amount of energy allocated to different functions such as thermoregulation, growth, reproduction and behavior. In this study, the role of thermogenic capacity and activity and behavior patterns in the adaptation to different ambient temperatures was investigated in the common shrew, *Crocidura russula*. Several individuals were therefore captured in Serra de Sintra and split into three groups: a control group, acclimated to a 12-12h photoperiod and a constant temperature of 20 °C; a winter group, acclimatized to winter conditions; and a summer group, acclimatized to summer conditions. Comparison between these three groups revealed that the metabolic rate, despite not having changed, was greater than expected from other studies, and non-shivering thermogenesis suffered only a slightly increase in winter. Shrews showed more activity in summer, although this wasn't evident because it was masked by seasonal environmental changes, like photoperiod or temperature. Food preference and amount of consumed food didn't show a marked difference between groups, but the shrews acclimatized to winter spent more time eating when in activity. Shrews also presented differences in daily torpor, showing its role in energy conservation. The results revealed that *C. russula* uses a very different strategy of energy conservation from the more well studied soricine shrews.

Keywords: Crocidurinae, thermogenic capacity, food preference, foraging, activity pattern, torpor, Serra de Sintra.

Índice

AGRADECIMENTOS	1
RESUMO	3
ABSTRACT	4
CAP. I – Os musaranhos e as estratégias de adaptação térmica.....	7
INTRODUÇÃO GERAL.....	7
O musaranho-comum, <i>Crocidura russula</i>	8
Objetivo Geral	9
Amostragem	10
CAP. II — Estratégias fisiológicas de adaptação à temperatura	11
INTRODUÇÃO	11
Objetivo.....	12
MATERIAIS E MÉTODOS	12
Análise dos Dados	13
RESULTADOS	13
DISCUSSÃO	16
Taxa Metabólica Basal	16
Termogénese Sem Tremor	17
CAP. III – Estratégias comportamentais de adaptação à temperatura.....	19
INTRODUÇÃO	19
Objetivo.....	20
MATERIAIS E MÉTODOS	20
Preferência Alimentar	20
Atividade	22
Análise do Torpor.....	23
Análise dos Dados	23
RESULTADOS	24

Preferência alimentar.....	24
Padrão e Tempo de Atividade	27
Torpor.....	27
DISCUSSÃO	30
Preferência Alimentar	30
Padrão de Atividade	31
Torpor.....	33
CAP. IV – Considerações finais	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	43

CAP. I – Os musaranhos e as estratégias de adaptação térmica

INTRODUÇÃO GERAL

Os musaranhos (Ordem Soricomorpha, Família Soricidae) incluem os mamíferos mais pequenos e primitivos conhecidos, apresentando características morfológicas e fisiológicas que remetem aos mamíferos ancestrais (Churchfield 1990). Possuem olhos pequenos e uma fraca visão, mas sentidos de audição e olfato excelentes que lhes permitem orientar-se e capturar presas em condições de fraca visibilidade. A sua dentição generalista com dentes aguçados facilita a captura de invertebrados, as suas presas preferenciais, embora também ocasionalmente se alimentem de sementes e bagas (Cridle 1973). Apesar das dimensões reduzidas comparativamente a todos os outros mamíferos, e da morfologia pouco variável, os musaranhos ocupam uma vasta variedade de nichos ecológicos de tal forma que várias espécies podem coexistir nas mesmas áreas geográficas (Kirkland Jr 1991; Churchfield et al. 1999).

Os musaranhos podem ser agrupados em três subfamílias: os Soricinae, que, com exceção do género *Neomys*, ocorrem na região Holártica, onde domina o clima temperado; os Crocidurinae, que se encontram distribuídos maioritariamente em África e na Eurásia, onde o clima tropical e subtropical predomina; e os Myosoricinae, que estão restritos ao sul do Deserto do Sahara (Repenning 1967; Maddalena & Bronner 1992; Hutterer 2005; Dubey et al. 2007). As espécies destas subfamílias, por habitarem regiões climáticas muito diferentes, desenvolveram adaptações distintas para conseguirem sobreviver. Por exemplo, Baxter (2005) mostrou que o fator abiótico limitante para a reprodução de *Myosorex varius*, um musaranho africano, é o nível de precipitação, mais do que a temperatura. No entanto, nas regiões temperadas e mediterrânicas, caracterizadas por uma vincada sazonalidade, é a temperatura, em conjunto com a escassez de alimento, o principal fator na regulação da sobrevivência e da reprodução nos musaranhos (Lovegrove 2003; Yom-Tov & Geffen 2006). O inverno é uma estação crítica para muitas espécies, que por isso apresentam adaptações anatómicas, fisiológicas e comportamentais que lhes permitem resistir a baixas temperaturas e à escassez de alimento (Merritt 1986; McDevitt & Andrews 1997; Jackson et al. 2001).

Adaptações anatómicas ao frio têm uma importância maior em mamíferos de maior porte devido à diminuição da relação superfície/volume. Enquanto estes podem, por exemplo, desenvolver uma pelagem mais densa que lhes oferece um maior isolamento térmico corporal, os musaranhos e outros pequenos mamíferos dependem sobretudo de estratégias fisiológicas (Scholander et al. 1950; Lovegrove 2003, 2005) e comportamentais (p. e. Vogel & Genoud 1981) para ultrapassarem condições térmicas desfavoráveis. No entanto os soricíneos utilizam uma interessante estratégia anatómica de poupança energética durante a estação mais fria, conhecida como fenómeno de Dehnel (Dehnel 1949). Este é caracterizado por uma redução da massa corporal e comprimento do corpo, redução da massa cerebral e tamanho do crânio, redução da massa da maioria dos órgãos internos e redução do conteúdo em água (Dehnel 1949; Pucek 1965; Churchfield 1981; Yaskin 1994; Taylor et al. 2013). Este fenómeno é frequentemente interpretado como uma adaptação ao decréscimo da disponibilidade alimentar no inverno (Hyvärinen 1984; Saarikko 1989; McNab 1991) permitindo que a necessidade energética, conjuntamente com uma redução no metabolismo e um maior isolamento térmico, seja mais baixa (Taylor et al. 2013).

O musaranho-comum, Crocidura russula

A espécie estudada no âmbito desta tese foi o musaranho-comum, *Crocidura russula* (Hermann 1780), um pequeno mamífero insetívoro (6,0-14,0 g) da Ordem Soricomorpha, Família Soricidae e subfamília Crocidurinae, distribuído por todo o Paleártico, incluindo o norte de África (fig. 1). É o musaranho mais comum da Península Ibérica, ocorrendo em todo o território nacional e ocupando uma grande variedade de ambientes (Blanco 1998; Mathias et al. 1999). Está associado a montados de sobro e azinho, matagal mediterrânico, zonas de pastagem, zonas cultivadas (normalmente em muros de pedra que rodeiam as propriedades), ecótonos (zonas de transição entre habitats) e, por vezes, pinhais (Mathias et al. 1999).

Sendo um crociduríneo, o fenómeno de Dehnel não é conhecido nesta espécie, colocando em causa o papel das estratégias anatómicas na sobrevivência do *C. russula* a baixas temperaturas. Relativamente a estratégias fisiológicas, Nagel (1977) foi o primeiro autor a descrever a existência de períodos de torpor nesta espécie. Mais tarde, Genoud (1985) mostrou que os períodos de torpor espontâneo do *C. russula* são mais frequentes em animais aclimatados a baixas temperaturas, sendo esta uma possível estratégia para resistir ao frio e escassez de alimento que ocorrem normalmente no

inverno. Tal como outros animais, a sua capacidade termogénica também é consideravelmente maior no inverno (Fontanillas et al. 2005), proporcionando-lhe uma maior produção de calor e um rápido aquecimento após o despertar do torpor. Mas desconhece-se de que forma o metabolismo basal da espécie varia ao longo do ano.

Relativamente a estratégias comportamentais, *C. russula* tem por hábito utilizar ninhos comunais no inverno para resistir às baixas temperaturas (Vogel & Genoud 1981). Nas zonas mais a norte do seu limite de distribuição, ocupa frequentemente zonas perto de habitações humanas, que são relativamente mais quentes e lhes proporcionam mais alimento. Mas carece de mais investigação o esclarecimento da escolha de diferentes tipos de alimento consoante as condições ambientais a que está sujeito.



Figura 1. Mapa da área de distribuição do musaranho-comum (*C. russula*), representada a cinzento-escuro (IUCN 2008).

Objetivo Geral

O objetivo principal deste estudo foi compreender as estratégias fisiológicas e comportamentais utilizadas pelo *C. russula* para se adaptar às variações sazonais da temperatura ambiente. Pretendeu-se abordar de forma integrada vários aspetos ligados à estratégia energética dos musaranhos com o objetivo de determinar o contributo de cada

um deles. Também quisemos complementar os nossos dados com outros previamente obtidos para espécies de Soricinae, visto que estudos nesta área para a subfamília Crocidurinae são comparativamente escassos.

Amostragem

Os animais foram capturados na Serra de Sintra, em três períodos diferentes: novembro de 2012, janeiro e junho de 2013. Foram utilizadas armadilhas tipo Sherman de madeira, produzidas no Instituto de Ecologia PAS, Dziekanów, Polónia, contendo algodão hidrófobo como material de ninho e carne picada como isco. As armadilhas foram verificadas de duas em duas horas, tendo início às 18h00 e acabando às 04h00. Todos os musaranhos capturados foram transportados para a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. A captura, transporte e manuseamento dos animais foram autorizados pelo Instituto de Conservação da Natureza e Florestas ao abrigo da Licença nº 161/2013/CAPT. No final das experiências, os animais foram libertados nos locais de captura.

No laboratório, os animais foram divididos em três grupos. O primeiro grupo (C), composto pelos animais que foram capturados em novembro, consistiu num grupo de controlo. Estes animais foram submetidos a uma aclimação durante duas semanas a uma temperatura (20 ± 2 C°) e fotoperíodo constantes (12-12h). O segundo grupo (I) consistiu nos animais aclimatizados às condições de inverno e que foram capturados em janeiro. O terceiro grupo de animais (V), capturados em junho, corresponde aos animais aclimatizados às condições de verão. O grupo I e o grupo V foram deixados em condições naturais de temperatura e fotoperíodo, tendo sido mantidos no exterior numa instalação abrigada da chuva e do vento.

Os animais foram mantidos em caixas de plástico (28 x 38 x 16 cm) cobertas por uma rede de metal densa. Cada caixa continha um substrato composto por areia e solo, e um vaso invertido com palha para providenciar abrigo aos animais. Estes foram alimentados com uma mistura de carne picada, larvas de tenébrios (*Tenebrio molitor*), pupas de mosca e ocasionalmente minhocas. De forma a reduzir enviesamentos na recolha de dados, os indivíduos nunca foram sujeitos a mais do que um teste por dia.

CAP. II — Estratégias fisiológicas de adaptação à temperatura

INTRODUÇÃO

Os musaranhos distinguem-se dos restantes mamíferos pela sua taxa metabólica extremamente elevada, quando ponderada a sua massa corporal (Hayssen & Lacy 1985; Tomasi et al. 1987; Sparti 1992; Taylor 1998). Dentro da família Soricidae, a taxa metabólica é significativamente mais elevada em membros da subfamília Soricinae do que na subfamília Crocidurinae (Vogel 1976; Genoud 1988; Taylor 1998). Julga-se que esta diferença resulte da sua origem em regiões geográficas distintas, com um clima consideravelmente diferente (Vogel 1976), sendo que estudos mais recentes apontam para uma origem Paleártica-Oriental dos Crocidurinae (Dubey et al. 2008; Rofes & Cuenca-Bescós 2011) e uma origem Euroasiática dos Soricinae (Dubey et al. 2007). Para além das diferenças encontradas na taxa metabólica entre espécies de musaranhos pertencentes às duas subfamílias, foram também detetadas importantes alterações na taxa metabólica dentro de cada espécie. Vários estudos indicam que a taxa metabólica dos musaranhos não é constante, variando consoante a estação do ano e as condições climáticas (McDevitt & Andrews 1995; Lovegrove 2003). Essa variação da taxa metabólica foi considerada por esses autores como um mecanismo de resistência ao frio, dada a correlação negativa com a temperatura a que um animal fica exposto, de forma a manter a temperatura corporal.

Para além de um aumento no metabolismo, a termogénese sem tremor (TST) é outro mecanismo fisiológico que parece estar relacionado com a resistência a baixas temperaturas não só em musaranhos (Merritt 1986; Sparti 1992) mas também noutros micromamíferos (Heldmaier et al. 1982; Klaus et al. 1988; Merritt et al. 2001; Zhang et al. 2012). Em mamíferos expostos a temperaturas muito baixas, a taxa metabólica sofre um aumento imediato através da indução de tremor. Contudo, algum tempo após esta exposição, o tremor cessa (Janský 1973), passando o elevado metabolismo a ocorrer através do processo de TST. Este mecanismo fisiológico também existe em mamíferos recém-nascidos e é responsável pela restauração da temperatura corporal durante o despertar do torpor ou da hibernação (Hashimoto et al. 2002). Ocorre em vários órgãos, mas o local principal é o tecido adiposo castanho, sendo primariamente mediado por noradrenalina (Mory et al. 1984).

Objetivo

Neste capítulo investigámos de que forma a capacidade termogénica varia entre o inverno e o verão em *C. russula*. Para tal analisámos a taxa metabólica e a TST dos indivíduos capturados em cada grupo. Partimos da hipótese inicial que, tal como acontece noutros soricíneos, a capacidade termogénica destes animais será maior no inverno, refletindo-se num aumento da taxa metabólica e na capacidade de TST.

MATERIAIS E MÉTODOS

O consumo de oxigénio foi medido separadamente para cada animal e para cada grupo experimental (C, V e I) num sistema de respirómetro de fluxo aberto utilizando um analisador de oxigénio Servomex (série 1100). Os animais foram colocados numa câmara cilíndrica de plástico com 0,4 cm de espessura e 29 x 7 cm de dimensão, de modo a restringir a capacidade locomotora, com uma rede de arame metálico no interior para evitar o contacto com a urina e fezes. A câmara metabólica, por onde passava um fluxo de ar seco a uma taxa de 500 mL/min, foi posteriormente colocada dentro de uma incubadora (Sanyo 089A) para se poder controlar a temperatura ($\pm 0,5$ °C). Os sinais analógicos do conteúdo de oxigénio no ar que saía da câmara foram digitalizados e enviados para um computador.

A taxa metabólica basal (TMB), que representa a taxa de metabolismo mais baixa medida a uma determinada temperatura num animal endotérmico num estado inativo e pós-absortivo (McNab 2002), pode ser considerada como uma base de referência para medir o metabolismo energético. Para a calcular, cada animal foi monitorizado durante um período de 2 horas e sempre durante o dia. O consumo de oxigénio foi calculado a partir da média dos valores mais baixos estáveis e consecutivos durante um período de 3 minutos em cada experiência. Esta experiência foi executada a duas temperaturas, 10 °C (mimetizando uma temperatura de inverno) e 30 °C (mimetizando uma temperatura de verão), sendo que cada animal foi monitorizado apenas uma vez para cada uma delas. No início e no final de cada medição foi registada a massa corporal do animal.

Cada animal foi ainda testado duas vezes à temperatura ambiente de 28 °C, correspondente à temperatura média na zona termoneutral. A primeira medição foi feita recorrendo ao mesmo procedimento usado na medição da TMB, enquanto na segunda medição foi testada a termogénese sem tremor (TST). Para tal, cada animal foi injetado

Tabela 1. Número de indivíduos de *C. russula* capturados para cada grupo e o peso médio antes da sua libertação.

Grupo	<i>N</i>	Peso médio médio (g) ± erro-padrão	Proporção dos sexos (machos:fêmeas)
Controlo (C)	10	10,545 ± 0,564	7:3
Inverno (I)	10	8,033 ± 0,198	5:5
Verão (V)	10	8,200 ± 0,423	7:3

subcutaneamente com uma solução (0,1 mg/mL) de noradrenalina diluída para a dose de 1,4 mg/kg de acordo com curvas de resposta dependentes da dose (Sparti 1992). O animal foi seguidamente colocado na incubadora, onde foi monitorizado durante 45 minutos, e o valor da TST foi calculado a partir do valor máximo de consumo de oxigénio obtido neste período. A massa corporal do animal foi registada antes da injeção e depois do animal ser retirado da incubadora. As medições da TST foram, em todos os casos, o último teste a ser realizado antes da libertação dos animais.

Análise dos Dados

O consumo de oxigénio (VO₂) na medição da TMB e da TST foi calculado em mL/min. Em relação ao tratamento estatístico, todos os dados foram testados para a normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Levene), sendo que quando ambos os pressupostos não foram cumpridos, recorreu-se a testes não-paramétricos. Os *outliers* mais significativos foram excluídos das análises estatísticas. Todos os testes estatísticos foram realizados no programa SPSS. Os dados foram sumarizados em médias, e as medidas de variabilidade em respetivos erros-padrão. O valor de significância usado foi de $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Foram capturados um total de 31 musaranhos, mas um deles morreu antes de ser submetido a todas as experiências. Após a conclusão das experiências e antes da sua libertação, os animais registaram uma massa corporal média de $8,550 \pm 0,276$ g, sendo que o grupo C, mantido em cativeiro e condições mais estáveis, apresentou uma massa corporal muito superior aos grupos I e V (Games-Howell; C x I, $p = 0,004$; C x V, $p = 0,011$; I x V, $p = 0,932$; tabela 1).

A TMB e a TST tiveram uma correlação positiva com a massa corporal (múltiplas correlações de Spearman; $p < 0,05$). A única exceção foi a medição da TMB a 10 °C, cujo VO₂ não esteve correlacionado com a massa corporal dos animais (correlação de Spearman; $n = 31$, $\rho = 0,282$, $p = 0,124$). O VO₂ registrado a esta temperatura foi também o único cujos dados apresentaram uma distribuição normal (Shapiro-Wilk; $W_{31} = 0,982$, $p = 0,864$).

O VO₂ foi 173% maior a 10 °C ($1,381 \pm 0,066$ mL/min) do que a 30 °C ($0,506 \pm 0,031$ mL/min). Quando corrigido para a massa corporal dos animais, a diferença foi de 175% (fig. 2), indicando que a massa corporal não teve influência na diferença registrada no VO₂. Não houve diferenças no VO₂ a 10 °C (ANOVA; $F_{2, 27} = 2,828$, $p = 0,076$), mas a 30 °C o VO₂ registrado no grupo C ($0,651 \pm 0,065$ mL/min) foi 62% maior que o registrado no grupo I ($0,401 \pm 0,024$ mL/min; Games-Howell; C x I: $p = 0,010$; C x V: $p = 0,055$; I x V: $p = 0,156$). Quando corrigidos para a massa corporal, o VO₂ foi semelhante entre os três grupos à temperatura ambiente de 10 °C (ANOVA; $F_{2, 27} = 0,401$, $p = 0,673$), enquanto a 30 °C houve uma diferença mais pronunciada, mas ainda assim não significativa (ANOVA; $F_{2, 27} = 2,706$, $p = 0,085$; fig. 2).

A 28 °C o VO₂ foi 293% maior na medição da TST ($2,576 \pm 0,072$ mL/min) comparativamente à TMB ($0,655 \pm 0,036$ mL/min). A TMB foi semelhante entre os três grupos (ANOVA; $F_{2, 28} = 0,232$, $p = 0,794$), mas os valores da TST foram ligeiramente diferentes (Kruskal-Wallis; $H_2 = 8,366$, $p = 0,015$). O grupo C ($2,814 \pm 0,154$ mL/min) teve um VO₂ 18% maior que o grupo V ($2,390 \pm 0,101$ mL/min), mas o grupo I não foi estatisticamente diferente de ambos (Mann-Whitney U; C x I: $Z = -1,248$, $p = 0,212$; C x V: $Z = 2,721$, $p = 0,007$; I x V: $Z = -1,853$, $p = 0,064$). Quando corrigidos para a massa corporal, a TST foi 313% maior que a TMB (fig. 3), indicando que a massa corporal teve uma pequena influência na diferença do VO₂. A TMB a 28 °C continuou a não ser estatisticamente diferente (ANOVA; $F_{2, 28} = 2,469$, $p = 0,103$), mas o grupo I teve, neste caso, um VO₂ ligeiramente maior que o grupo C na medição da TST (Games-Howell; C x I: $p = 0,023$; C x V: $p = 0,914$; I x V: $p = 0,391$).

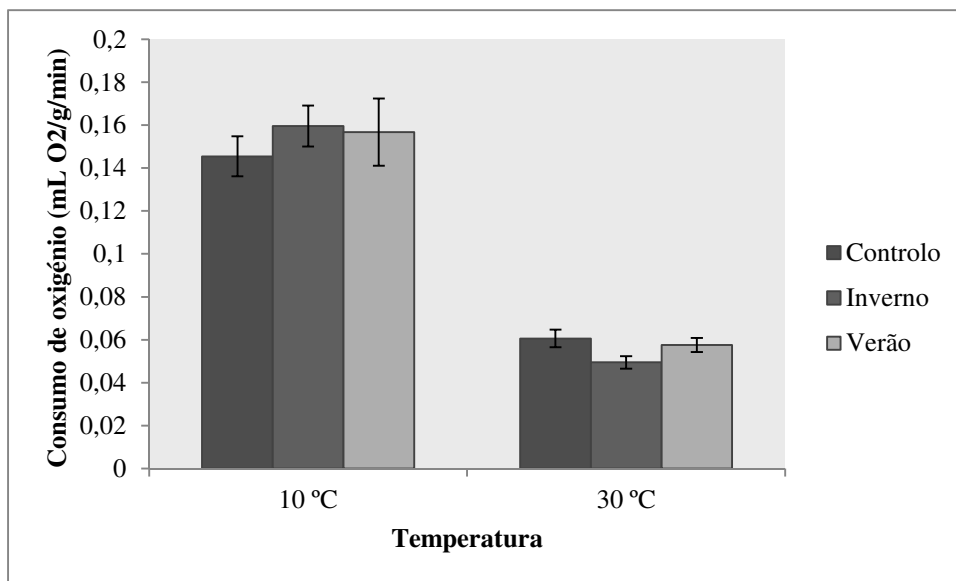


Figura 2. Taxa metabólica basal (TMB) registada a diferentes temperaturas em musaranhos-comum (*C. russula*) aclimatizados a diferentes condições ambientais (média \pm erro-padrão; $n = 10$ para todos os grupos).

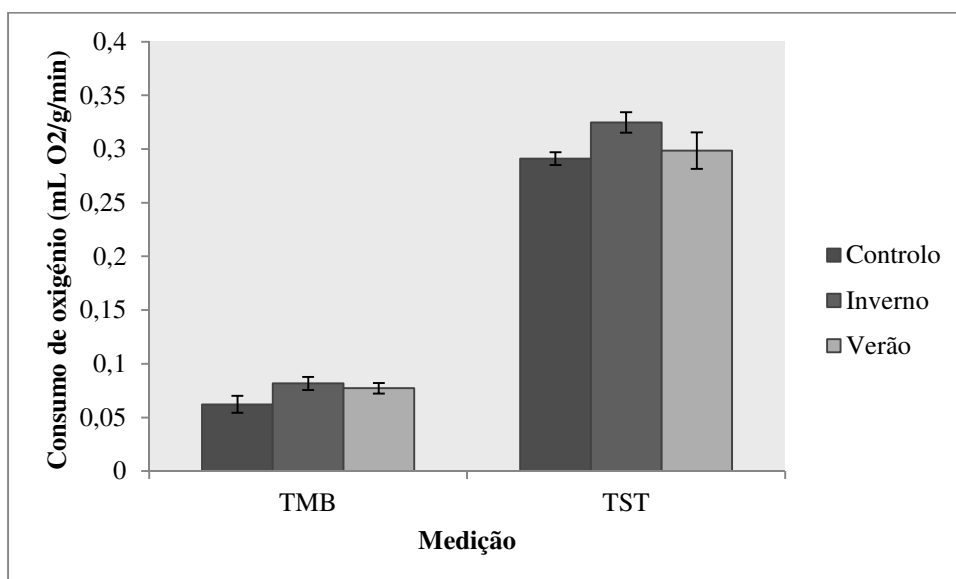


Figura 3. Taxa metabólica basal (TMB) e termogénese sem tremor (TST) registadas à temperatura controlada de 28 C° (zona termoneutral) em musaranhos-comuns (*C. russula*) aclimatizados a diferentes condições ambientais (média \pm erro-padrão; $n = 10$ para todos os grupos).

DISCUSSÃO

Taxa Metabólica Basal

Neste estudo, a TMB e a massa corporal medidos em *C. russula* foram diferentes do registado anteriormente para esta espécie (Taylor 1998). O valor da TMB mais alto obtido até hoje foi de 2,45 mL O₂ g⁻¹ h⁻¹ em musaranhos que pesavam 9,6 g em média (Nagel 1985), e o mínimo foi de 1,70 mL O₂ g⁻¹ h⁻¹ em musaranhos que pesaram 13,7 g em média (Nagel 1977). Os musaranhos estudados registaram, a 30 °C, um valor de 3,35 mL O₂ g⁻¹ h⁻¹ e pesaram 8,55 g em média, um valor maior do que seria esperado, mesmo tendo em conta a diferença na massa corporal. Esta diferença de peso parece ir a favor a regra de Bergmann, em que populações da mesma espécie que habitam latitudes mais elevadas têm uma massa corporal maior que raças que habitam latitudes mais baixas, visto que a maioria dos estudos sobre a TMB de *C. russula* foram executados em indivíduos capturados a latitudes mais elevadas (fora da Península Ibérica) do que os animais utilizados neste estudo (consultar Taylor 1998). Curiosamente, em soricíneos, esta tendência funciona de um modo inverso, em que as populações com indivíduos de menor tamanho encontram-se em climas mais frios (Ochocińska & Taylor 2003). Existem várias explicações para diferenças pronunciadas no metabolismo de indivíduos pertencentes à mesma espécie (Burton et al. 2011). A que achamos ser a mais provável será por a Península Ibérica possuir uma abundância e diversidade maiores de macroinvertebrados do que o resto da Europa, e por isso o *C. russula* não passa por um período de escassez de alimento tão pronunciado e pode compensar esta taxa metabólica elevada consumindo mais alimento. Serão necessários estudos adicionais para testar a validade desta hipótese, assim como comparar o metabolismo em indivíduos noutras regiões da Península Ibérica.

São escassos os dados comparativos sobre a taxa metabólica em *C. russula* capturados em diferentes estações do ano. No presente estudo os animais capturados consumiram a mesma quantidade de oxigénio à mesma temperatura, independentemente da estação do ano, indicando que não existe uma adaptação fisiológica evidente às diferentes condições climáticas e de fotoperíodo. No entanto, existem diferenças quando comparamos *C. russula* com outras espécies de musaranhos. O *Sorex minutus*, um soricíneo, apresentou a mesma tendência quando exposto à temperatura de 6 °C durante 3 horas (McDevitt & Andrews 1997), independente da estação do ano a que estava

aclimatizado, no entanto esta diminuiu no inverno quando este foi exposto a uma temperatura termoneutral (McDevitt & Andrews 1995, 1997). *Sorex araneus* também apresentou uma redução na taxa metabólica em repouso a uma temperatura termoneutral no inverno relativamente ao verão (Taylor et al. 2013). Esta redução no metabolismo deveu-se sobretudo a uma redução na massa corporal no inverno causada pelo fenómeno de Dehnel. Quando corrigidos para esta diferença, tanto *S. minutus* como *S. araneus* mostraram possuir uma taxa metabólica semelhante no verão e no inverno (McDevitt & Andrews 1995; Taylor et al. 2013). Este fenómeno não está descrito no *C. russula*, e isso pôde ser confirmado neste estudo, visto que a massa corporal dos animais não ter sido significativamente diferente entre o inverno e o verão, o que poderá explicar a inexistência desta variação na TMB.

Outra possível explicação reside nas diferentes condições climáticas nas regiões onde estas espécies podem ser encontradas. Lovegrove (2003) demonstrou que os fatores que mais influenciam a taxa metabólica nas regiões com latitudes elevadas são a temperatura ambiente e a precipitação anual absoluta. Neste caso, os musaranhos utilizados neste estudo foram capturados na Serra de Sintra, uma região conhecida por possuir um ambiente bastante húmido, com poucas flutuações de temperatura (Domingos 2008). É portanto possível que, devido a essa estabilidade, a taxa metabólica não varie anualmente nestes animais.

De notar que, apesar de não serem significativamente diferentes por uma pequena margem, a TMB medida a uma temperatura ambiente de 30 °C foi inferior no inverno comparativamente ao controlo. É possível que um isolamento térmico maior, causado pela pelagem de inverno, confira ao *C. russula* alguma intolerância ao calor. Será necessário testar um número maior de indivíduos para aferir esta tendência.

Termogénese Sem Tremor

Relativamente à TST, há várias espécies de micromamíferos que aumentam a sua capacidade termogénica no inverno (Heldmaier et al. 1982; Klaus et al. 1988; Merritt et al. 2001; Zhang et al. 2012), inclusivamente soricíneos (Merritt 1986; Sparti 1992; Merritt 1995). Contudo, neste estudo, embora os animais aclimatizados ao inverno tenham tido uma TST significativamente maior do que os animais de controlo (aclimatados a 20 ± 2 °C), este resultado não foi obtido para os animais aclimatizados ao verão. Isto deveu-se a uma maior variabilidade dos dados comparativamente aos outros dois grupos (fig. 3), e a explicação mais provável para este resultado poderá ser devido

a uma diferença intraespecífica entre os animais capturados. Os resultados obtidos por Fontanillas et al. (2005), mostraram que a TST em *C. russula* teve um aumento significativo no inverno, e estabilizou no início da primavera. Contudo, os valores obtidos para o início da primavera dependeram não só do sexo dos animais, mas também da presença ou ausência do haplótipo H1. À luz desta hipótese, se admitirmos que esta tendência se mantém no verão, que também se encontra dentro da época de reprodução desta espécie, a diferença entre os animais de controlo e de inverno pode ser explicada por ambos não estarem ainda fisiologicamente preparados para a época de reprodução, e por isso apresentarem uma variabilidade menor.

Fontanillas et al. (2005) obtiveram ainda um aumento de 586% da capacidade termogénica relativamente à TMB em março, a uma temperatura ambiente de 20 °C, enquanto o nosso aumento registado foi de 273% (valores não corrigidos para a massa corporal) em janeiro. Poderão existir duas explicações possíveis para este aumento ser comparativamente menor. A primeira deve-se às diferentes regiões onde os animais foram capturados. Tendo em conta que a Cordilheira de Jura, região onde os musaranhos testados por Fontanillas et al. (2005) foram capturados, é um local mais frio do que a Serra de Sintra, confirma-se a capacidade termogénica como um mecanismo adaptativo do *C. russula* para resistir ao frio. A segunda explicação possível relaciona-se com a TMB anormalmente elevada registada nestes animais, como foi descrito anteriormente. Fontanillas et al. (2005) obtiveram uma TMB de 0,372 mL O₂ min⁻¹, enquanto neste estudo foi obtido um valor de 0,506 mL O₂ min⁻¹. Assim sendo o aumento mais baixo da TST pode estar mascarado pelo facto de estes animais terem uma TMB maior que o esperado.

CAP. III – Estratégias comportamentais de adaptação à temperatura

INTRODUÇÃO

Tanto a manutenção de uma taxa metabólica elevada como a termogênese sem tremor implicam um enorme gasto energético por parte dos animais, de forma a produzir uma grande quantidade de calor corporal. Para poupar energia, algumas espécies de musaranhos são capazes de entrar em torpor durante um curto período de tempo, uma estratégia inversa que envolve a redução da temperatura corporal, e consequentemente do metabolismo (Wang & Wolowyk 1988; Geiser 2004). Em animais que vivem nas latitudes mais altas, onde o inverno é mais rigoroso, o fotoperíodo parece ser um fator ecológico que afeta não só a ocorrência mas também a duração do torpor; uma exposição mais curta à luz induz períodos de torpor mais longos e frequentes (Lynch et al. 1978; Stamper et al. 1999; Körtner & Geiser 2000; Geiser et al. 2007). Mas o torpor também é uma estratégia adaptativa utilizada por animais heterotérmicos em zonas em que a abundância de alimento é imprevisível (Ibuka & Fukumura 1997; Wojciechowski et al. 2007; Munn et al. 2010), permitindo-lhes reduzir os gastos energéticos em épocas em que esta é mais reduzida que o normal. Está descrito que os Crocidurinae são capazes de entrar em torpor, mas numa enorme parte dos Soricinae isso não acontece (Genoud 1985). Uma possível justificação para isto relaciona-se com o seu metabolismo; geralmente animais capazes de entrar em torpor têm taxas metabólicas basais mais baixas do que os que não o conseguem fazer (McNab 1983). O interesse acrescido por este tema tem levado ao desenvolvimento de novas tecnologias e metodologias para quantificar a frequência e a duração do torpor com mais precisão (Willis et al. 2005; Willis 2007; Boyles et al. 2011; Brigham et al. 2011). Pelo contrário, estudos acerca do torpor em musaranhos são antigos, tornando-se difícil de comparar os resultados obtidos com os estudos mais recentes.

Intrinsecamente o padrão de atividade diário está relacionado com o torpor, e também este se encontra mal estudado. O comportamento dos micromamíferos varia consoante vários fatores de âmbito sazonal, como o clima, a disponibilidade de alimento e o estado reprodutor. Por isso estudos no sentido de comparar a forma como este varia em diferentes fases do seu ciclo de vida tem muita relevância na caracterização de uma

espécie e, consequentemente, do seu papel no ecossistema. A grande maioria dos estudos acerca do padrão de atividade sazonal foi executada em espécies de Soricinae (Lardet 1988; Ohdachi 1994; Brandt & McCay 2005), enquanto os estudos em Crocidurinae são mais antigos e menos numerosos (Genoud & Vogel 1981).

Em adição a estas diferenças sazonais intraespecíficas, diferenças anatômicas, ecológicas e comportamentais são traduzidas em hábitos alimentares distintos em espécies de musaranhos diferentes (Churchfield 1991; Rychlik & Jancewicz 2002; Churchfield & Rychlik 2006). A procura de alimento é uma parte muito importante na vida dos musaranhos, pois devido ao seu elevado metabolismo, precisam de ingerir uma grande quantidade de comida em intervalos de tempo relativamente curtos. Por isso são bons modelos quando se trata de estudar o modo como um animal aloca e utiliza a sua energia. Por exemplo, está descrito em vários estudos um comportamento de armazenamento de comida em Soricinae (ex. Merritt 1986; Rychlik & Jancewicz 2002), particularmente durante o inverno, quando o alimento está menos disponível, mas não em Crocidurinae, levando a crer que este não armazena comida. Também não existem estudos que comparem a quantidade de comida consumida, assim como a sua dieta, em espécies simpátricas mas pertencentes a subfamílias diferentes.

Objetivo

Com este capítulo pretendemos investigar o padrão de atividade e de utilização do torpor do *C. russula* no inverno e no verão, tendo como hipótese que o torpor é mais frequente no inverno e que o período de atividade diário seja mais longo no verão, derivado de um clima mais favorável e por ocorrer a época de reprodução. Também pretendemos obter dados sobre a sua preferência alimentar e o modo como esta espécie balança a sua energia consoante as condições em que se encontra. Pressupomos que esta espécie consome mais comida e prefere presas mais energéticas no inverno de modo a compensar um maior gasto energético devido às temperaturas mais baixas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preferência Alimentar

Foram conduzidos testes de refeitório (Pinowski & Drożdż 1968) numa sala iluminada com temperatura controlada (19 ± 1 °C). Os musaranhos foram testados individualmente

Tabela 2. Número e massa média dos diferentes tipos de “presas” oferecidos aos musaranhos no teste de refeitório.

Tipo de presa	Nº de itens	Massa média (g) \pm desvio-padrão
Larvas de tenébrio inteiras	8	1,011 \pm 0,122
Larvas de tenébrio cortadas	15	0,668 \pm 0,118
Pupas de mosca	15	0,836 \pm 0,140
<i>Gammarus</i>	20	0,179 \pm 0,071
Pedaços de carne grandes	4	3,295 \pm 0,448
Pedaços de carne pequenos	11	2,218 \pm 0,482

em terrários de vidro (21 x 38 x 30 cm) com um vaso invertido, com tiras de papel, como material de ninho. Os testes foram realizados entre as 14 e as 18h, período em que a atividade locomotora e a procura de alimento são mais reduzidas (Buchalczyk 1972). Uma hora antes de o teste ser realizado, toda a comida contida nas caixas onde os musaranhos estavam foi retirada.

Foram oferecidos seis tipos de “presas” em caixas de Petri que foram posteriormente colocados em cada terrário. Estas, que serviram como a comida de teste, consistiram em: pupas de mosca (*Calliphora* sp.), *Gammarus* sp., larvas de tenébrio (*Tenebrio molitor*), larvas de tenébrio cortadas em três partes iguais, pedaços grandes de carne de vaca e pedaços pequenos de carne de vaca (tabela 2).

A comida de teste foi preparada uma hora antes da experiência, e o número de itens e a massa total de cada tipo de presa foram registados. Os animais testados foram também pesados antes de cada experiência. A precisão das pesagens foi de 0,1 g tanto para as presas como para os musaranhos. De seguida, o animal foi colocado no terrário de teste e deixado sem perturbação durante 10 minutos. Seis caixas, cada uma contendo um tipo diferente de presa, foram depois dispostas aleatoriamente dentro do terrário, e cada indivíduo foi deixado imperturbado durante as duas horas seguintes. Logo após este período o musaranho foi removido do terrário, tendo sido novamente pesado, assim como os diferentes tipos de presas que restavam nas respetivas caixas e fora das mesmas. Os musaranhos foram filmados com uma câmara de vídeo (Canon, HD Camcorder) durante todo o tempo entre a colocação e a remoção das caixas de Petri. Nestas filmagens foram registados essencialmente os seguintes comportamentos: tempo (em segundos) de manuseamento das presas (p. ex. comportamentos de cheirar e transportar as presas para o ninho), tempo a comer uma presa e tempo a explorar o

terrário (essencialmente o tempo restante). Cada musaranho foi testado três vezes no total e durante duas horas por dia.

Atividade

Para analisar o padrão de atividade diário e a influência que a temperatura e o fotoperíodo podem ter neste consoante a estação do ano, a metodologia usada neste teste foi semelhante à de Willis et al. (2005). Os animais foram testados em terrários de vidro com um substrato de areia. Neste terrário continham um pequeno tubo cilíndrico de cartão (5 x 5 cm) com 0,3 cm de espessura para simular um ninho, forrado com cartolina preta e tecido para isolar a temperatura. Na base de cada ninho foi feito um buraco circular onde se colocou um ‘*datalogger*’ (iButton DS1990A Thermocron, Maxim Integrated Products, Canadá) calibrado para medir a temperatura ($\pm 0,5$ °C) no ninho em intervalos de 1 minuto ao longo de um período de 24 horas. Foram também fornecidos aos musaranhos caixas de Petri com comida e água, seguindo o mesmo procedimento utilizado nos testes de refeitório. Toda a experiência foi filmada durante 24 horas com recurso a uma câmara digital, onde, em cada minuto, foi registado se o animal estava dentro ou fora do ninho artificial.

Este teste foi executado em dois tipos de condições diferentes. O primeiro foi feito na mesma sala onde foram realizados os testes de refeitório, e nas mesmas condições (temperatura controlada a 19 ± 1 °C). Aqui os animais estiveram sob um fotoperíodo de 12-12h, sendo o período de luz entre as 08h00 e as 20h00. Para que a câmara pudesse captar imagens durante o período de escuridão, recorreu-se a uma lâmpada de luz vermelha ligada a um relógio programado para acender às 20h00 e apagar às 8h00. O segundo teste foi realizado no exterior, onde os animais ficaram sujeitos às flutuações de temperatura e humidade diárias e a um fotoperíodo natural, embora abrigados da chuva, do vento e do sobreaquecimento devido à luz solar. Este teste não foi realizado em dias onde ocorreu chuva, com o risco do comportamento dos animais ser influenciado negativamente. Tal como no primeiro teste, recorreu-se a uma luz vermelha para se conseguir captar imagens à noite. Esta foi programada para acender às 17h00 e apagar às 08h00 no inverno, e acender às 19h00 e apagar às 06h00 no verão. O resto do procedimento foi idêntico ao do teste anterior.

Todos os animais foram expostos a ambos os testes apenas uma vez. O grupo C não foi testado em condições exteriores.

Análise do Torpor

Para quantificar o torpor em *C. russula*, utilizou-se um método adaptado de Barclay et al. (2001). Escolhemos um período em que os animais estavam mais ativos (em que não entrariam em torpor) e verificámos a temperatura do ninho quando o animal estava lá dentro. Naturalmente sempre que um animal saía do ninho, a temperatura registada no ninho descia, e quando o animal voltava a entrar, subia e estabilizava. Por isso tomámos a temperatura mínima registada durante essa estabilização como a temperatura limiar abaixo da qual o animal estava em torpor. A temperatura corporal é uma variável contínua, variando entre os dois extremos de um estado tórpido e não tórpido. Por isso o tempo em que a temperatura do ninho descia até estabilizar abaixo da temperatura limiar foi contabilizado também como torpor, ao passo que o tempo em que esta subiu até ultrapassar a temperatura limiar foi contabilizado como o animal estando já num estado não tórpido.

Embora haja o risco de não se detetar períodos de torpor superficiais, uma medida conservadora como esta garante que os períodos de tempo assinalados como o animal estando num estado tórpido são verdadeiros. Devido às variações de temperatura ambiental a que os animais testados ao ar livre tiveram sujeitos, a quantificação de períodos de torpor apenas foi executada para os animais em condições controladas.

Análise dos Dados

Relativamente ao alimento consumido, a análise de dados na experiência de refeitório foi feita essencialmente a partir da massa das presas consumidas, enquanto na experiência de atividade esta foi feita a partir do número de itens consumidos. Isto porque, após 24 horas, a diferença de massa nos pedaços de carne não correspondia só ao valor consumido, mas também ao conteúdo de água perdido contido na carne. Na experiência de atividade, foi registado a cada 60 segundos se o animal estava dentro ou fora do ninho. Este valor foi utilizado para calcular posteriormente um “índice de atividade”, que corresponde, num período de 30 minutos, ao número de vezes em que o animal foi visto fora do ninho seguindo este método. Esse índice foi depois usado para analisar o padrão de atividade dos musaranhos. A análise estatística foi executada da mesma maneira que no capítulo anterior.

RESULTADOS

Preferência alimentar

A maioria dos animais utilizaram o ninho como abrigo. No entanto alguns não chegaram a utilizá-lo, preferindo ficar no exterior, mas perto do ninho, a repousar. Houve ainda animais que levaram comida para o ninho, não sendo possível contabilizar qualquer comportamento durante o tempo que estiveram lá dentro. Nem todos os animais saíram do ninho durante a execução da experiência.

O tempo que os animais passaram fora do ninho não foi diferente entre os três grupos (Kruskal-Wallis; $H_2 = 2,200$, $p = 0,333$) e correspondeu a menos de 10% do tempo total da experiência (fig. 4a). Não houve diferenças no tempo que os animais passaram a explorar o terrário (Kruskal-Wallis; $H_2 = 4,115$, $p = 0,128$) e a comer fora do ninho (Kruskal-Wallis; $H_2 = 3,833$, $p = 0,147$). Porém, quando corrigido para o tempo total de atividade, o grupo I passou significativamente mais tempo a comer (Kruskal-Wallis; $H_2 = 12,635$, $p = 0,002$) e menos tempo a explorar (Kruskal-Wallis; $H_2 = 8,085$, $p = 0,018$) do que os grupos C e V (fig. 4b). O tempo de manuseamento das presas não foi diferente (Kruskal-Wallis; $H_2 = 1,065$, $p = 0,587$), mesmo quando corrigido para o tempo de atividade (Kruskal-Wallis; $H_2 = 1,356$, $p = 0,508$).

A quantidade de alimento ingerido em cada experiência foi semelhante entre os diferentes grupos (grupo C: $0,288 \pm 0,027$ g, $n = 30$; grupo I: $0,307 \pm 0,056$ g, $n = 28$; grupo V: $0,344 \pm 0,045$ g, $n = 32$; Kruskal-Wallis: $p = 0,570$). Apenas dois tipos de presas foram comidos nos três grupos: as larvas de tenébrio inteiras e as larvas de tenébrio cortadas. As pupas de mosca apenas foram comidas no grupo I (fig. 5). A massa de larvas de tenébrio inteiras comida foi superior à massa de larvas de tenébrio cortadas comida em todos os grupos (comparações múltiplas com o teste de Mann-Whitney; $p < 0,002$), contudo, não houve diferenças em cada grupo na massa consumida de ambas as presas (Kruskal-Wallis; larvas de tenébrio inteiras, $p = 0,580$; larvas de tenébrio cortadas, $p = 0,850$; fig. 5).

Nas experiências de atividade, praticamente todos os animais consumiram todas as larvas de tenébrio inteiras e cortadas, e todas as pupas (fig. 6). Não houve diferenças entre os grupos na quantidade de presas consumida, quer em condições controladas (Kruskal-Wallis; $H_2 = 2,626$, $p = 0,269$) quer em condições naturais (Mann-Whitney; $Z = -0,266$, $p = 0,790$). Contudo, verificaram-se diferenças marcadas na proporção de

presas consumidas (Kruskal-Wallis; $H_5 = 140,553$, $p < 0,001$), sendo que as larvas de tenébrio inteiras, as larvas de tenébrio cortadas, e as pupas de mosca foram significativamente mais consumidas que os *Gammarus*, os pedaços de carne grandes e os pedaços de carne pequenos (comparações múltiplas com o teste de Games-Howell; $p < 0,001$; fig. 6a). O mesmo aconteceu para os grupos em condições naturais no exterior: verificou-se uma grande diferença na proporção de presas consumidas (Kruskal-Wallis; $H_5 = 76,224$, $p < 0,001$), destacando-se novamente as larvas de tenébrio inteiras, as larvas de tenébrio cortadas, e as pupas de mosca como as presas significativamente mais consumidas, e os *Gammarus*, os pedaços de carne grandes e os pedaços de carne pequenos como as presas significativamente menos consumidas (comparações múltiplas com o teste de Games-Howell; $p < 0,001$; Fig. 6b).

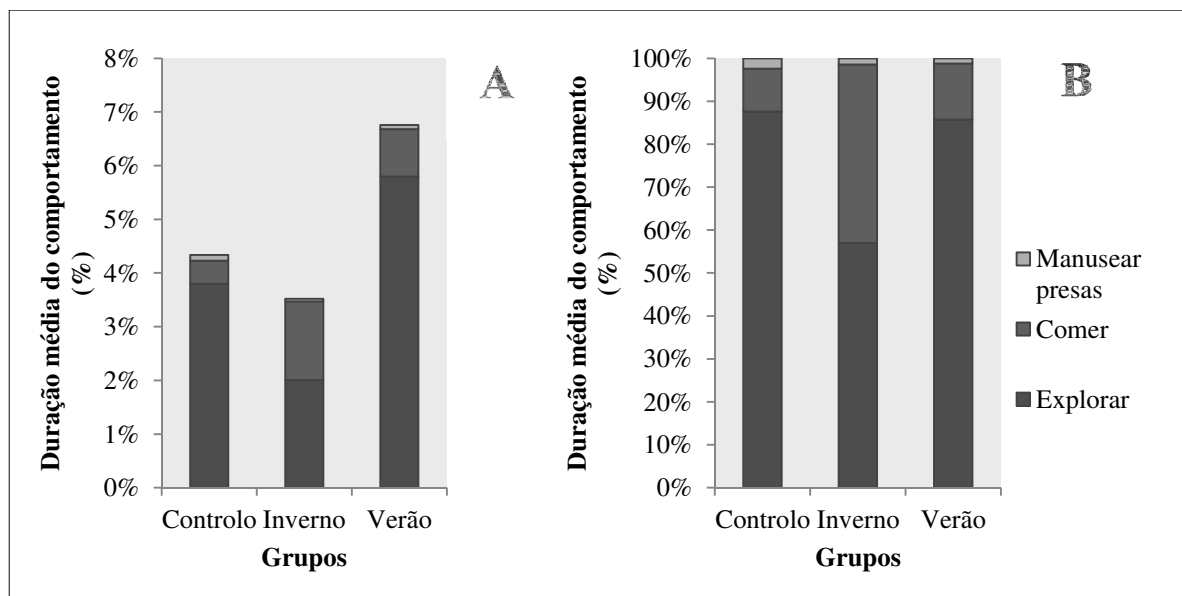


Figura 4. Tempo médio de duração dos comportamentos descritos que um musaranho-comum (*C. russula*) efetuou relativamente ao tempo total da experiência (2 horas; A) e ao tempo total de atividade (B). Os grupos ($n = 30$) representam diferentes condições ambientais às quais os animais estiveram aclimatizados.

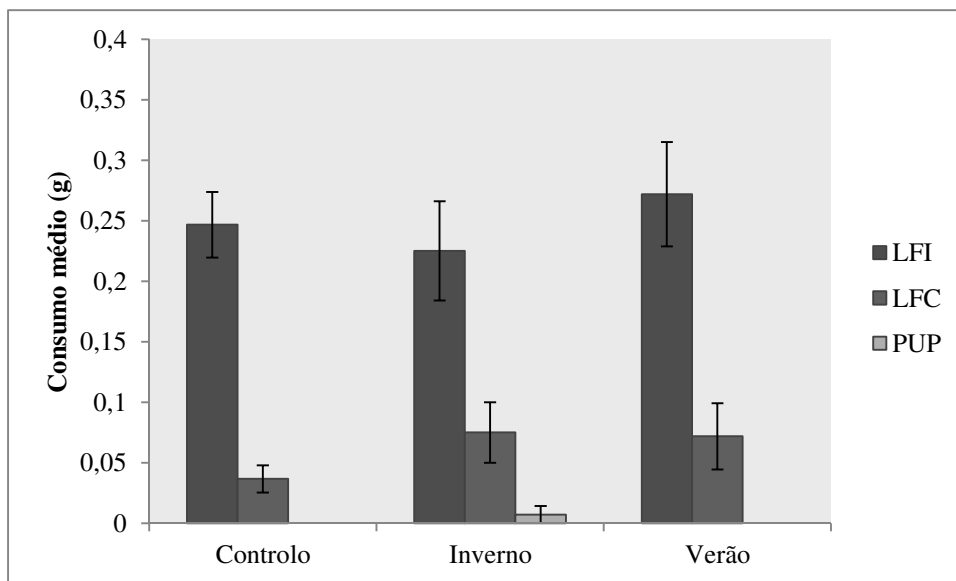


Figura 5. Massa consumida (média \pm erro-padrão) de diferentes tipos de presa pelo musaranho-comum (*C. russula*). PUP = pupas de mosca; LFI = larvas de tenébrio inteiras; LFC = larvas de tenébrio cortadas em três. Os grupos ($n = 30$ para cada grupo) representam diferentes condições ambientais às quais os animais estiveram aclimatizados.

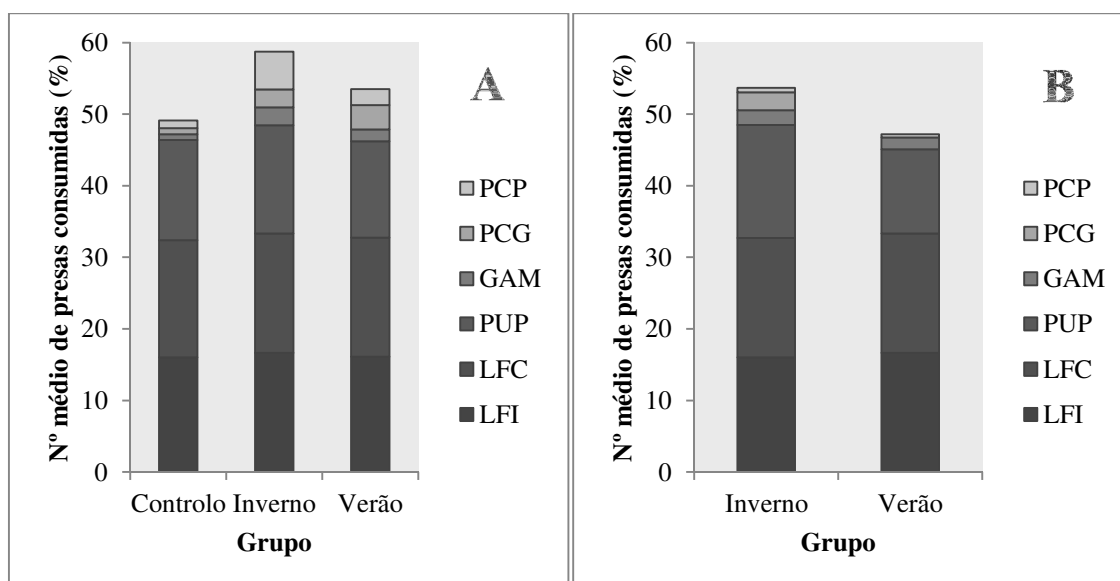


Figura 6. Número médio de presas consumidas pelo musaranho-comum (*C. russula*) relativamente ao número total de presas oferecidas num período de 24h em condições controladas (fotoperíodo 12-12h; temperatura ambiente 19 ± 1 °C; A) e em condições naturais (B). Os grupos ($n = 10$ para cada grupo) representam diferentes condições ambientais às quais os animais estiveram aclimatizados. LFI = larvas de tenébrio inteiras; LFC = larvas de tenébrio cortadas em três; PUP = pupas de mosca; GAM = *Gammarus sp.*; PCG = pedaços de carne grandes; PCP = pedaços de carne pequenos.

Padrão e Tempo de Atividade

Todos os animais nesta experiência usaram o ninho artificial como abrigo, sem exceção. No entanto, alguns que ficaram a repousar temporariamente fora do ninho (praticamente imóveis). Este comportamento evidenciou-se num animal no grupo I em condições controladas, e em 4 animais no grupo V em condições naturais.

Em condições controladas, os animais tiveram um período de atividade mais reduzido entre as 08h30 e as 19h30 (todos os grupos: índice de atividade $< 5,0$; fig. 7a). Este período foi assim eliminado das análises estatísticas. O grupo V esteve mais ativo que os grupos C e I entre as 21h30 e as 07h30, e por isso teve um tempo total de atividade muito maior (Mann-Whitney; C x I: $Z = -0,897$, $p = 0,370$; C x V: $Z = -3,496$, $p < 0,001$; I x V: $Z = -3,176$, $p = 0,001$; fig. 8). O grupo V também teve um padrão de atividade diferente dos outros dois grupos (Wilcoxon pareado; C x I: $Z = -0,128$, $p = 0,898$; C x V: $Z = -3,436$, $p = 0,001$; I x V: $Z = -3,944$, $p < 0,001$). Em condições naturais o período de atividade foi mais reduzido entre as 10h30 e as 17h30 (todos os grupos: índice de atividade $< 5,0$; fig. 7b), e também este período foi cortado das estatísticas. Ambos os grupos diferiram ligeiramente no padrão de atividade (Wilcoxon pareado: $Z = -2,055$, $p = 0,040$), sendo que o grupo V esteve mais ativo que o grupo I entre as 20h30 e as 04h00. Contudo o tempo total de atividade não foi diferente entre os dois grupos (Mann-Whitney; $Z = -1,212$, $p = 0,225$; fig. 8).

Torpor

O período de tempo escolhido para calcular a temperatura limiar foi entre as 19h30, tempo a partir do qual os musaranhos começaram a ter um índice de atividade mais elevado, e as 05h00, um tempo antes de *C. russula* entrar em torpor (Genoud 1985). A figura 9 mostra o exemplo de um animal que entrou em torpor e o reflexo que este teve na temperatura registada no ninho e no tempo de atividade do animal.

Um total de 2 animais entrou em torpor no grupo C, assim como 6 animais no grupo I e 3 no grupo V. Mesmo num estado tórpido, houve animais no grupo I e V que saíram do ninho e tiveram atividade no terrário. Nem todos os animais tiveram um longo período de torpor diário, havendo até três animais no grupo I que tiveram 4 períodos de torpor distintos. A temperatura limiar oscilou entre os 21,5 e os 22,5 °C, indicando que, mesmo num estado tórpido, a temperatura do ninho foi, no máximo, 4,5 °C mais elevada que a temperatura ambiente.

No total, os animais no grupo I foram os que passaram mais tempo num estado tórpido (Fig. 10), embora as diferenças não tenham sido significativas (Kruskal-Wallis; $H_2 = 3,840$, $p = 0,147$). Curiosamente, dos animais que entraram em torpor, os do grupo V foram os que tiveram períodos de torpor mais prolongados (grupo C: $60,250 \pm 27,250$ min; grupo I: $57,380 \pm 6,628$ min; grupo V: $90,330 \pm 23,212$ min), sendo que a média de períodos de torpor no grupo foi de 2 no grupo C, 3 no grupo I e 1 no grupo V.

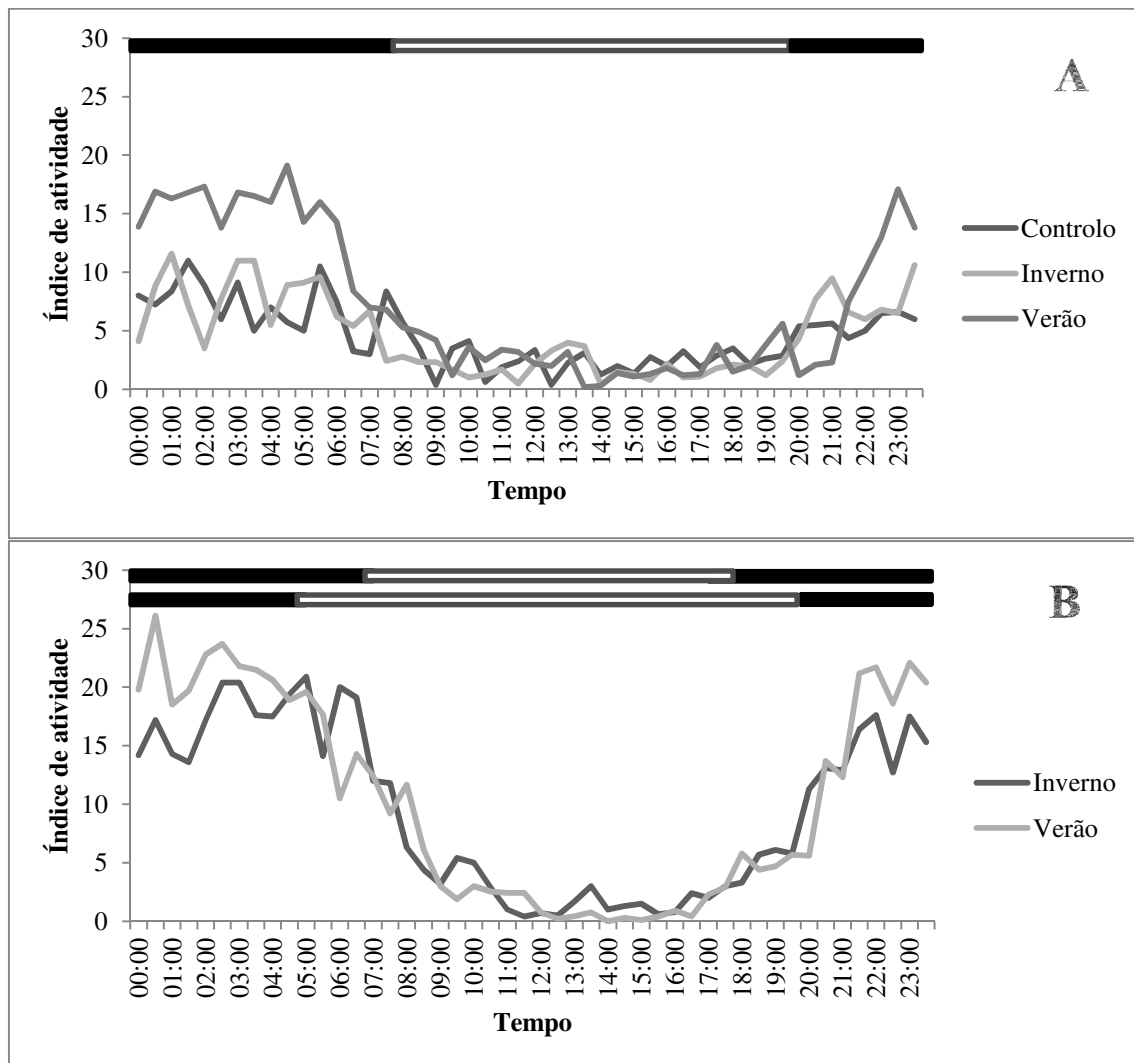


Figura 7. Padrão diário de atividade do musaranho-comum (*C. russula*) em condições controladas (fotoperíodo 12-12h; temperatura ambiente 19 ± 1 °C; A) e em condições naturais (B). O índice de atividade representa o número de vezes, registado em intervalos de 60 segundos, num período de tempo de 30 minutos em que o animal se encontrou fora do ninho. Os grupos ($n = 10$ para cada grupo) representam diferentes condições ambientais às quais os animais estiveram aclimatizados. As barras brancas acima dos gráficos representam o período de luz, e as barras pretas o período de escuridão. Na figura B o conjunto de barras em cima representa o fotoperíodo médio do grupo aclimatizado ao inverno, e o conjunto de barras em baixo o fotoperíodo médio do grupo aclimatizado ao verão.

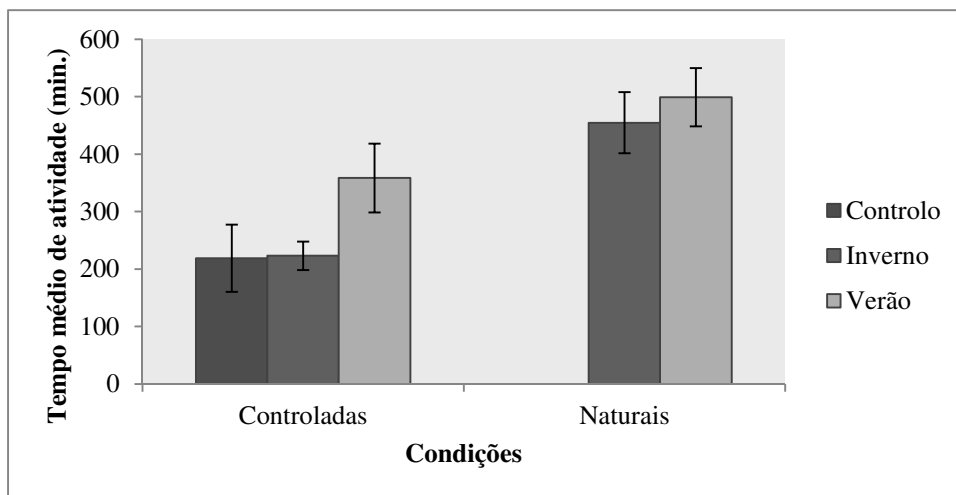


Figura 8. Tempo total de atividade (média \pm erro-padrão) num período de 24 horas em musaranhos-comuns (*C. russula*) aclimatizados a diferentes condições ambientais. $N = 10$ para todos os grupos.

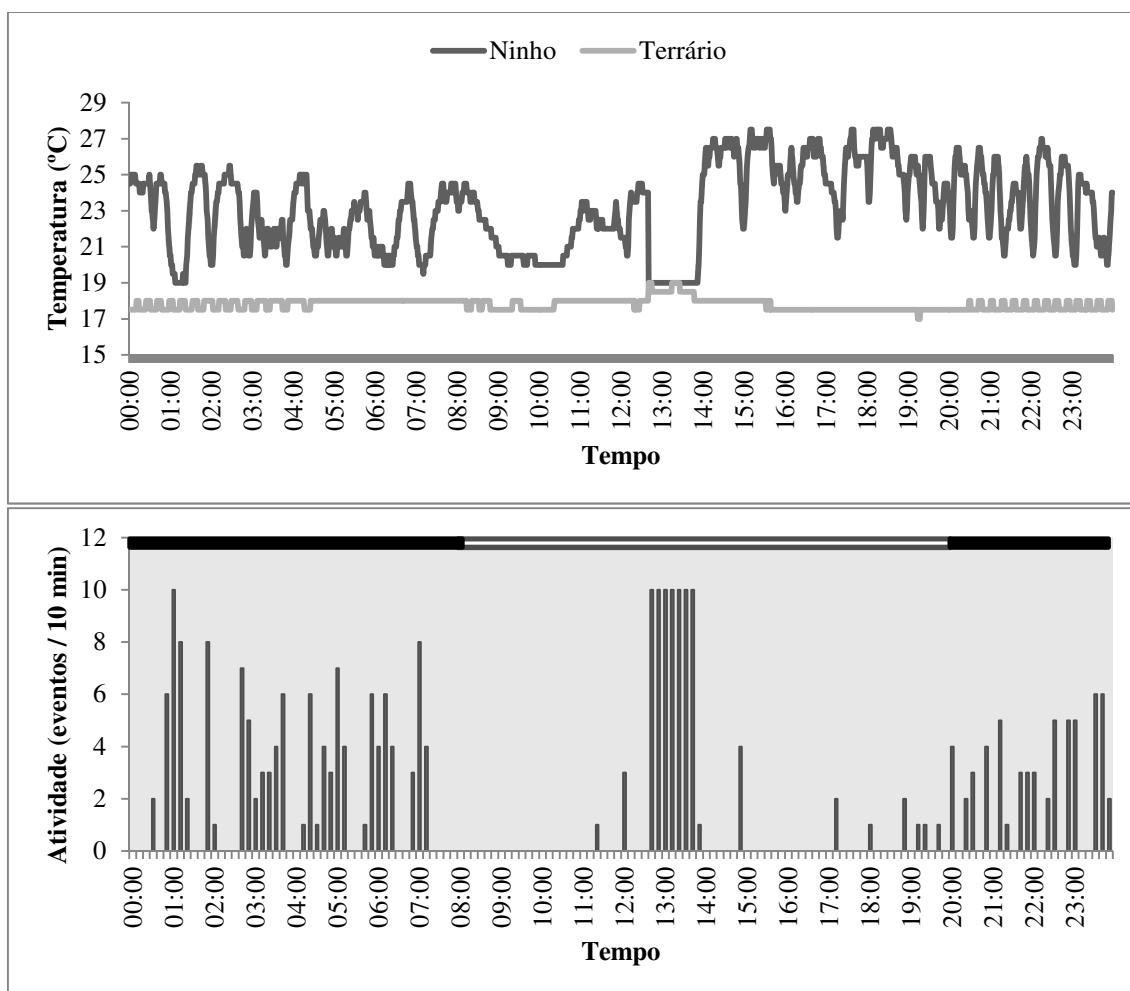


Figura 9. Curso de tempo representativo da temperatura do ninho, temperatura ambiente e atividade comportamental registados para um musaranho-comum (*C. russula*) em condições controladas durante o inverno. A atividade representa o número de vezes, num período de 10 minutos, em que o animal foi visto fora do ninho em intervalos de 60 segundos. As barras escuras representam o período de escuridão. De notar o período entre as 08h30 e as 10h30, em que o animal entrou em torpor.

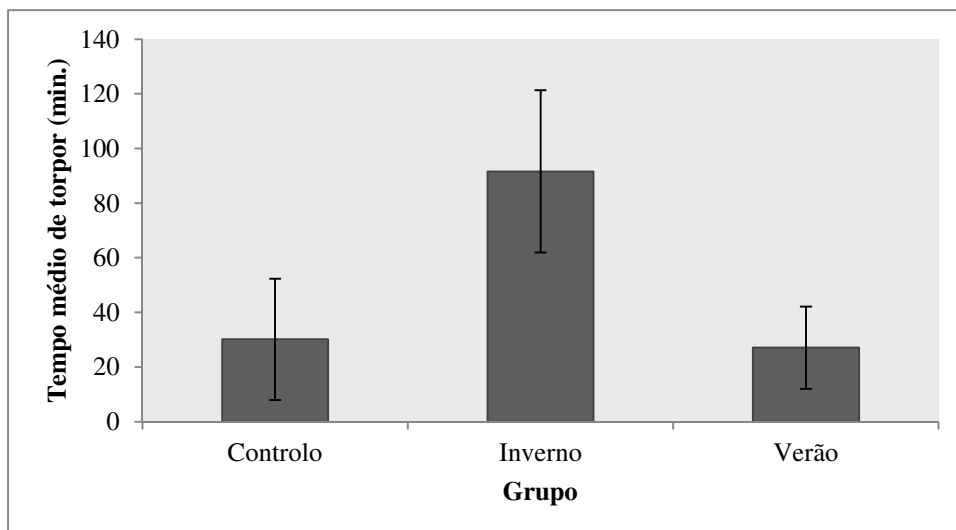


Figura 10. Tempo médio de torpor (\pm erro-padrão) registado num período de 24h em musaranhos-comuns (*C. russula*) aclimatizados a diferentes condições ambientais. $N = 10$ para todos os grupos.

DISCUSSÃO

Preferência Alimentar

Como vimos no capítulo anterior, os animais do grupo C registaram uma massa corporal maior que os outros grupos, refletindo o seu regime de três semanas num ambiente controlado e comida e água *ad libitum*. Esta diferença de peso não parece ter afetado o consumo de presas, visto que a quantidade de alimento ingerido não foi diferente entre os três grupos e registou um consumo médio de 0,31 g em duas horas. Sabendo que o consumo de alimento está correlacionado positivamente com os gastos energéticos provenientes do metabolismo, este resultado não é surpreendente porque, como foi visto anteriormente, a TMB não foi significativamente diferente entre grupos. Uma experiência semelhante realizada por Rychlik & Jancewicz (2002) mostrou que *S. araneus*, um soricíneo com uma massa corporal semelhante à de *C. russula*, registou um consumo médio de 0,19 g em quatro horas. Seria de esperar que *S. araneus* tivesse um consumo maior por ter uma TMB muito maior que a de *C. russula* (*C. russula*: 3,35 mL O₂ g⁻¹ h⁻¹, este estudo; *S. araneus*: 7,43 mL O₂ g⁻¹ h⁻¹, Nagel 1985). No entanto, a massa de comida que *S. araneus* armazenou no ninho foi tanta quanto a consumida, enquanto no nosso caso *C. russula* consumiu praticamente toda a comida que transportou para o ninho.

Apenas um dos animais consumiu todas as larvas de tenébrio, inteiras e cortadas, nos testes de refeitório, enquanto nos testes com os outros animais sobrou sempre

comida de cada categoria. Isto indica que a sua preferência alimentar não foi afetada pela quantidade de comida oferecida nos testes de refeitório. As larvas de tenébrio inteiras foram as mais consumidas em todos os grupos em termos de massa, seguidas pelas larvas de tenébrio cortadas, enquanto as pupas apenas foram consumidas durante o inverno. Nos testes de atividade praticamente todas as pupas e larvas de tenébrio foram consumidas. Aqui sim a sua preferência alimentar terá sido fortemente afetada pela quantidade de alimento oferecido nos testes de atividade. Os pedaços de carne e os *Gammarus* foram significativamente menos predados, e apenas foram consumidos nos testes de atividade. Estes resultados mostram que, apesar dos seus hábitos generalistas, o *C. russula* apresenta uma preferência por certos tipos de alimentos. Neste caso esta espécie preferiu consumir presas vivas mas menos energéticas em detrimento de presas mais calóricas. Isto poderá estar relacionado com os seus hábitos de vida. Estudos sobre a dieta de *Crocidura* spp. reportam que a maior parte das presas consumidas são macroinvertebrados (Churchfield et al. 2004; Brahmi et al. 2012). Em contrapartida, os seus hábitos necrófagos são muito raros, o que poderá explicar porque a carne foi consumida em pouca quantidade. Na experiência de refeitório de Rychlik & Jancewicz (2002), tanto o *Neomys anomalus* como o *Neomys fodiens*, musaranhos com hábitos aquáticos, predaram sobre artrópodes aquáticos, entre os quais *Gammarus*. Neste caso o *C. russula* não é uma espécie aquática, e por isso também raramente terá predado os *Gammarus*. Por outro lado, este resultado também poderá estar relacionado com a eficiência de utilização de comida. Hanski (1984) sugeriu que a quantidade de comida consumida diariamente era maior quando musaranhos eram alimentados com escaravelhos do que quando eram alimentados com pupas de insetos. Isto porque a eficiência de utilização pelos musaranhos é maior, visto possuírem uma cutícula mais mole do que o exoesqueleto rijo dos escaravelhos adultos. Os nossos resultados sugerem que este terá sido o caso, e os *C. russula* preferiram os insetos por estes apresentarem uma eficiência de utilização maior.

Padrão de Atividade

É improvável que a atividade dos animais tenha sido influenciada por escassez de alimento, visto que, em média, mais de 40% do alimento oferecido sobrou no final da experiência (fig. 7).

O tempo de atividade foi significativamente mais elevado no grupo V que nos grupos C e I quando em condições controladas, mas quando os grupos I e V foram

testados no exterior, o tempo de atividade não foi significativamente diferente. Genoud & Vogel (1981) também concluíram que a atividade total diária permanece relativamente constante ao longo de um ciclo anual. Contudo, embora o tempo absoluto de atividade entre I e V tenha sido semelhante, houve diferenças no padrão de atividade ao longo do dia (fig. 8). O grupo V esteve predominantemente mais ativo que o grupo I entre as 20h30 e as 04h00, mas depois alternaram em alguns períodos até os animais repousarem, sendo que a atividade do grupo I foi muito maior que a do grupo V entre as 06h00 e as 07h00. Os nossos resultados sugerem que existem alterações no padrão de atividade entre o inverno e o verão, mas que estas não são evidentes por estarem mascaradas pelas variações sazonais. Ou seja, os animais estão mais tempo em atividade no verão, mas como o período de escuridão é menor, altura do dia em que os animais estão mais ativos, o tempo absoluto de atividade acaba por não variar anualmente. Isto não explica, no entanto, o nível de atividade observado entre as 17h00 e as 20h00, que foi bastante parecido entre os dois grupos (fig. 8b). É possível que a variação de temperatura, ou até o estado reprodutor dos animais, tenham alguma influência no padrão de atividade. Seriam necessários estudos mais concretos que diferenciem a influência destes fatores no padrão de atividade dos musaranhos, particularmente Crocidurinae.

Vários estudos afirmam que os níveis de atividade em soricíneos tornam-se mais baixos no inverno (Buchalczyk 1972; Loxton et al. 1975; Martin 1983). Brandt & McCay (2005) sugerem que esta redução de atividade apenas ocorre acima do solo e é derivada do facto de estes animais armazenarem alimento no inverno (Robinson & Brodie Jr 1982; Rychlik & Jancewicz 2002), e por isso passam menos tempo a procurar alimento à superfície. Estes autores também mostraram que, sendo os soricíneos incapazes de armazenar alimento, passam mais tempo fora do ninho a alimentarem-se. No caso do *C. russula*, observou-se no presente estudo que o armazenamento de comida é um comportamento muito raro, e que a grande maioria da comida levada para o ninho foi consumida num período inferior a 2 horas. Por isso esta espécie, de modo a contrabalancear um gasto energético maior devido às baixas temperaturas, passa mais tempo a procurar alimento quando sai do ninho no inverno (Buchalczyk 1972; Genoud & Vogel 1981; este estudo). Parece então que estes diferentes modos de alimentação têm um forte impacto no padrão de atividade dos musaranhos.

Torpor

A uma temperatura ambiente de 19 °C e sem escassez de alimento simulada, o torpor no *C. russula* foi pouco frequente e difícil de quantificar. O que se verificou neste estudo foi um contínuo de temperaturas ao longo do ciclo diário, sem um limite bem definido abaixo do qual o animal pode ser considerado como estando num estado tórpido. Muitos outros animais são capazes de regular a temperatura corporal acima dos valores da temperatura ambiente mas abaixo da temperatura normotérmica (Geiser & Masters 1994; Hosken & Withers 1997; Körtner et al. 2000; McKechnie et al. 2007), e o *C. russula* parece não ser uma exceção.

Os animais aclimatizados ao verão tiveram menos períodos de torpor, mas mais prolongados, enquanto os animais aclimatizados ao inverno tiveram mais períodos de torpor, mas mais curtos. Apesar de os nossos resultados não serem significativos, devido ao número baixo de amostras com que trabalhámos nesta experiência, não são de todo inesperados. Os grupos experimentais estiveram expostos a um fotoperíodo diferente, e este é um dos principais fatores que afeta o torpor em animais endotérmicos (Lynch et al. 1978; Stamper et al. 1999; Körtner & Geiser 2000; Geiser et al. 2007). Genoud (1985) também chegou a uma conclusão semelhante, em que o número de torpores espontâneos foi maior no inverno e menor na primavera. No entanto, ao contrário do expectável, os períodos de torpor foram menos prolongados no inverno. Uma explicação para este resultado poderá prender-se com diferenças na temperatura ambiental. É menos dispendioso energeticamente para um animal despertar do torpor se a diferença entre a temperatura normotérmica deste e a temperatura ambiente for menor. Também se a temperatura corporal do animal descer muito abaixo dos valores da normotermia, este demorará mais tempo até repor a temperatura corporal, ficando sujeito a outro tipo de riscos, como a predação.

Foi também observado neste estudo que o *C. russula*, mesmo em estado tórpido, é capaz de se movimentar e entrar em atividade, inclusivamente procurar alimento e comer. Embora existam vários estudos que descrevem animais que entram em atividade a uma temperatura corporal abaixo do valor normotérmico (Willis 2007), é a primeira vez que este comportamento é descrito em *C. russula*. Isto atesta à sua capacidade de diminuir os seus gastos energéticos na manutenção da temperatura corporal mesmo quando os indivíduos estão ativos, algo que os soricíneos não conseguem fazer,

mostrando que a estratégia energética desta espécie para suportar as difíceis condições de inverno é mais eficiente do que se pensava.

CAP. IV – Considerações finais

No presente estudo, *C. russula* apresentou características fisiológicas e comportamentais diferentes consoante a sua aclimatização ao inverno ou ao verão, particularmente no que se refere à alocação e dispêndio de energia. A sua capacidade metabólica manteve-se praticamente constante ao longo das estações, embora a capacidade termogénica tenha sofrido um ligeiro incremento no inverno. A quantidade de comida ingerida não variou com a estação, assim como as suas preferências alimentares. As alterações mais pronunciadas neste estudo estiveram relacionadas com a atividade. Observámos que os animais estão, no geral, mais ativos à noite no verão, apesar do tempo total de atividade não ter variado, consequência das alterações ambientais sazonais. Ainda assim, no inverno os animais ocuparam mais tempo do seu período de atividade a procurar alimento do que no verão. Também o torpor teve uma duração total maior no inverno do que no verão.

Este estudo sugere que *C. russula* está perfeitamente adaptado às variações sazonais de temperatura que se fazem sentir em Portugal. O facto dos parâmetros metabólicos analisados se manterem praticamente inalterados durante todo o ano deve-se muito provavelmente à baixa amplitude térmica entre o verão e o inverno verificada no nosso país. A redução da temperatura ambiente no inverno é compensada pelo *C. russula* através do mecanismo de torpor e da focalização da atividade diária na procura de comida. Este tipo de estratégia energética é muito diferente das respostas fisiológicas e comportamentais normalmente utilizadas por soricíneos em regiões mais frias. Será muito importante no futuro desenvolver estudos que impliquem investigar as respostas energéticas do *C. russula* face a alterações marcadas de temperatura ambiente, como projetadas em cenários de alterações climáticas globais, não tanto devido a um aumento de temperatura global mas sim à provável alteração na amplitude térmica. Esse tipo de estudos será ainda mais relevante se for integrado também as respostas energéticas de outras espécies de musaranhos como o *Sorex granarius*, que coexistem em Portugal com o *C. russula*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barclay, R. M., Lausen, C. L., & Hollis, L. (2001). What's hot and what's not: defining torpor in free-ranging birds and mammals. *Canadian Journal of Zoology*, 79(10), 1885-1890.
- Baxter, R. M. (2005). Variation in aspects of the population dynamics of the endemic forest shrew *Myosorex varius* in South Africa. *Advances in the Biology of Shrews II*, 179-189.
- Blanco, J. C. (1998). Mamíferos de España. Guía de campo. Volumen 1. Insectívoros, quirópteros, primates y carnívoros de la Península Ibérica, Baleares y Canarias. *Geoplaneta*.
- Boyles, J. G., Smit, B., & McKechnie, A. E. (2011). A new comparative metric for estimating heterothermy in endotherms. *Physiological and Biochemical Zoology*, 84(1), 115-123.
- Brahmi, K., Aulagnier, S., Slimani, S., Mann, C. S., Doumandji, S., & Baziz, B. (2012). Diet of the Greater white-toothed shrew *Crocidura russula* (Mammalia: Soricidae) in Grande Kabylie (Algeria). *Italian Journal of Zoology*, 79(2), 239-245.
- Brandt, A. J., & McCay, T. S. (2005). Temperature and photoperiod effects on activity of the northern short-tailed shrew (*Blarina brevicauda*). *Bios*, 76(1), 9-14.
- Brigham, R. M., Willis, C. K. R., Geiser, F., & Mzilikazi, N. (2011). Baby in the bathwater: should we abandon the use of body temperature thresholds to quantify expression of torpor?. *Journal of Thermal Biology*, 36(7), 376-379.
- Buchalczyk, A. (1972). Seasonal variations in the activity of shrews. *Acta Theriologica*, 17, 221-243.
- Burton, T., Killen, S. S., Armstrong, J. D., & Metcalfe, N. B. (2011). What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1724), 3465-3473.
- Cantoni, D., & Vogel, P. (1989). Social organization and mating system of free-ranging, greater white-toothed shrews, *Crocidura russula*. *Animal behaviour*, 38(2), 205-214.
- Churchfield, S. (1981). Water and fat contents of British shrews and their role in the seasonal changes in body weight. *Journal of Zoology*, 194(2), 165-173.

- Churchfield, S. (1990). *The natural history of shrews*. Cornell University Press.
- Churchfield, S. (1991). Niche dynamics, food resources, and feeding strategies in multispecies communities of shrews. *The biology of the Soricidae (JS Findley and TL Yates, eds.). Special Publication of the Museum of Southwestern Biology, University of New Mexico, Albuquerque*, 23-34.
- Churchfield, S., Nesterenko, V. A., & Shvarts, E. A. (1999). Food niche overlap and ecological separation amongst six species of coexisting forest shrews (Insectivora: Soricidae) in the Russian Far East. *Journal of Zoology*, 248(3), 349-359.
- Churchfield, S., Barrière, P., Hutterer, R., & Colyn, M. (2004). First results on the feeding ecology of sympatric shrews (Insectivora: Soricidae) in the Taï National Park, Ivory Coast. *Acta theriologica*, 49(1), 1-15.
- Churchfield, S., & Rychlik, L. (2006). Diets and coexistence in *Neomys* and *Sorex* shrews in Białowieża forest, eastern Poland. *Journal of Zoology*, 269(3), 381-390.
- Criddle, S. (1973). The granivorous habits of shrews. *Canadian Field-Naturalist*, 87, 69-70.
- Dehnel, A. (1949). Studies on the genus *Sorex* L. *Annales of the university of M. Curie-Skłodowska, Section C*, 4, 17-102.
- Domingos, S. I. (2008). *Microclimatologia do Município de Sintra com base em estações meteorológicas*. Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Engenharia Geográfica, Geofísica e Energia: Dissertação submetida para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Geofísicas - Especialização Meteorologia.
- Dubey, S., Salamin, N., Ohdachi, S. D., Barrière, P., & Vogel, P. (2007). Molecular phylogenetics of shrews (Mammalia: Soricidae) reveal timing of transcontinental colonizations. *Molecular phylogenetics and evolution*, 44(1), 126-137.
- Dubey, S., Salamin, N., Ruedi, M., Barrière, P., Colyn, M., & Vogel, P. (2008). Biogeographic origin and radiation of the Old World crocidurine shrews (Mammalia: Soricidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Molecular phylogenetics and evolution*, 48(3), 953-963.
- Fontanillas, P., Depraz, A., Giorgi, M. S., & Perrin, N. (2005). Nonshivering thermogenesis capacity associated to mitochondrial DNA haplotypes and gender

- in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*. *Molecular Ecology*, 14(2), 661-670.
- Geiser, F., & Masters, P. (1994). Torpor in relation to reproduction in the mulgara, *Dasyercus cristicauda* (Dasyuridae: Marsupialia). *Journal of Thermal Biology*, 19(1), 33-40.
- Geiser, F. (2004). Metabolic rate and body temperature reduction during hibernation and daily torpor. *Annual Review of Physiology*, 66, 239-274.
- Geiser, F., McAllan, B. M., Kenagy, G. J., & Hiebert, S. M. (2007). Photoperiod affects daily torpor and tissue fatty acid composition in deer mice. *Naturwissenschaften*, 94(4), 319-325.
- Genoud, M., & Vogel, P. (1981). The activity of *Crocidura russula* (Insectivora, Soricidae) in the field and in captivity. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 46, 222-232.
- Genoud, M. (1985). Ecological energetics of two European shrews: *Crocidura russula* and *Sorex coronatus* (Soricidae: Mammalia). *Journal of Zoology*, 207(1), 63-85.
- Genoud, M. (1988). Energetic strategies of shrews: ecological constraints and evolutionary implications. *Mammal Review*, 18(4), 173-193.
- Hanski, I. (1984). Food consumption, assimilation and metabolic rate in six species of shrew (*Sorex* and *Neomys*). *Annales Zoologici Fennici*, 21, 157-165.
- Hashimoto, M., Gao, B., Kikuchi-Utsumi, K., Ohinata, H., & Osborne, P. G. (2002). Arousal from hibernation and BAT thermogenesis against cold: central mechanism and molecular basis. *Journal of Thermal Biology*, 27(6), 503-515.
- Hayssen, V., & Lacy, R. C. (1985). Basal metabolic rates in mammals: taxonomic differences in the allometry of BMR and body mass. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 81(4), 741-754.
- Heldmaier, G., Steinlechner, S., & Rafael, J. (1982). Nonshivering thermogenesis and cold resistance during seasonal acclimatization in the Djungarian hamster. *Journal of Comparative Physiology*, 149(1), 1-9.
- Hosken, D. J., & Withers, P. C. (1997). Temperature regulation and metabolism of an Australian bat, *Chalinolobus gouldii* (Chiroptera: Vespertilionidae) when euthermic and torpid. *Journal of Comparative Physiology B*, 167(1), 71-80.
- Hutterer, R. (2005). Order Soricomorpha. Pp.: 220–311. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*, 1.

- Hyvärinen, H. (1984). Wintering strategy of voles and shrews in Finland. In *Winter ecology of small mammals* (Vol. 10, pp. 139-148). Carnegie Museum of Natural History Special Publication: Merritt, J.F.
- Ibuka, N., & Fukumura, K. (1997). Unpredictable deprivation of water increases the probability of torpor in the Syrian hamster. *Physiology & Behavior*, 62(3), 551-556.
- IUCN (2008). *Crocidura russula* (White-toothed Shrew). Obtido em 17 de setembro de 2013, de IUCN Red List of Threatened Species: <http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=29652>
- Jackson, D. M., Trayhurn, P., & Speakman, J. R. (2001). Associations between energetics and over-winter survival in the short-tailed field vole *Microtus agrestis*. *Journal of Animal Ecology*, 70(4), 633-640.
- Janský, L. (1973). Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biological Reviews*, 48(1), 85-132.
- Kirkland Jr, G. L. (1991). Competition and coexistence in shrews (Insectivora: Soricidae) . In *The biology of the Soricidae* (pp. 15-22). University of New Mexico, Albuquerque: Special Publication of the Museum of Southwestern Biology.
- Klaus, S., Heldmaier, G., & Ricquier, D. (1988). Seasonal acclimation of bank voles and wood mice: nonshivering thermogenesis and thermogenic properties of brown adipose tissue mitochondria. *Journal of Comparative Physiology B*, 158(2), 157-164.
- Körtner, G., & Geiser, F. (2000). The temporal organization of daily torpor and hibernation: circadian and circannual rhythms. *Chronobiology international*, 17(2), 103-128.
- Körtner, G., Brigham, R. M., & Geiser, F. (2000). Metabolism: Winter torpor in a large bird. *Nature*, 407(6802), 318-318.
- Lardet, J. P. (1988). Spatial behaviour and activity patterns of the water shrew *Neomys fodiens* in the field. *Acta Theriologica*, 33, 293-303.
- Lovegrove, B. G. (2003). The influence of climate on the basal metabolic rate of small mammals: a slow-fast metabolic continuum. *Journal of Comparative Physiology B*, 173(2), 87-112.
- Lovegrove, B. G. (2005). Seasonal thermoregulatory responses in mammals. *Journal of Comparative Physiology B*, 175(4), 231-247.

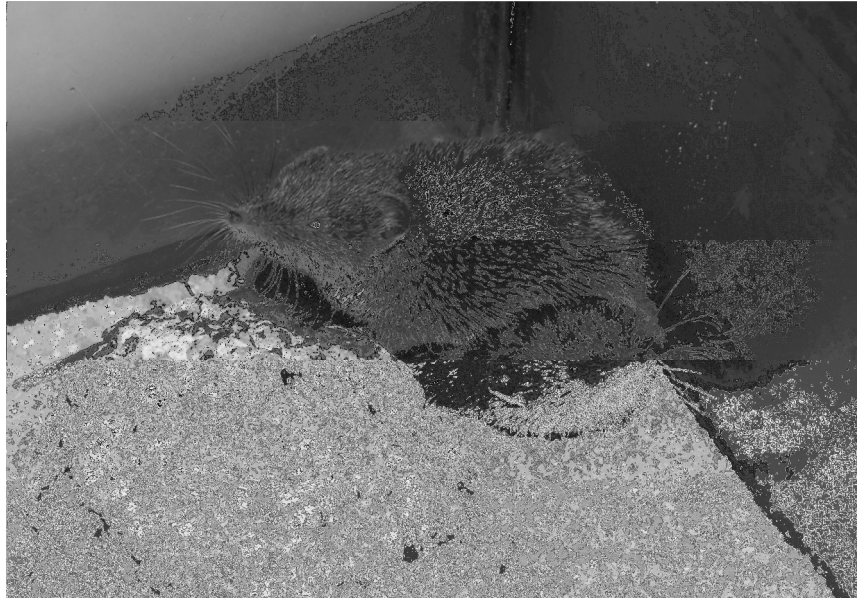
- Loxton, R. G., Raffaelli, D., & Begon, M. (1975). Coprophagy and the diurnal cycle of the common shrew, *Sorex araneus*. *Journal of Zoology*, 177(4), 449-453.
- Lynch, G. R., White, S. E., Grundel, R., & Berger, M. S. (1978). Effects of photoperiod, melatonin administration and thyroid block on spontaneous daily torpor and temperature regulation in the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*. *Journal of Comparative Physiology*, 125(2), 157-163.
- Maddalena, T., & Bronner, G. (1992). Biochemical systematics of the endemic African genus *Myosorex* Gray, 1838 (Mammalia: Soricidae). *Israel Journal of Zoology*, 38(3-4), 245-252.
- Martin, I. G. (1983). Daily activity of short-tailed shrews (*Blarina brevicauda*) in simulated natural conditions. *American Midland Naturalist*, 136-144.
- Mathias, M. L., Santos-Reis, M., Palmeirim, J., & Ramalhinho, M. G. (1999). Guia dos mamíferos terrestres de Portugal continental, Açores e Madeira. *Instituto da Conservação da Natureza. Lisboa*.
- McDevitt, R., & Andrews, J. F. (1995). Seasonal variation in the metabolic rate of the Pygmy shrew, *Sorex minutus*: Can resting metabolic rate be measured in post-absorptive shrews? *Journal of thermal biology*, 20(3), 255-261.
- McDevitt, R. M., & Andrews, J. F. (1997). Seasonal variation in brown adipose tissue mass and lipid droplet size of *Sorex minutus*, the pygmy shrew; The relationship between morphology and metabolic rate. *Journal of thermal biology*, 22(2), 127-135.
- McKechnie, A. E., Ashdown, R. A., Christian, M. B., & Brigham, R. M. (2007). Torpor in an African caprimulgid, the freckled nightjar *Caprimulgus tristigma*. *Journal of Avian Biology*, 38(3), 261-266.
- McNab, B. K. (1983). Energetics, body size, and the limits to endothermy. *Journal of Zoology*, 199(1), 1-29.
- McNab, B. K. (1991). The energy expenditure of shrews. In J. Findley, & T. Yates (Eds.), *The biology of the Soricidae* (pp. 35-45). The Museum of Southwestern Biology, University of New Mexico, Albuquerque.
- McNab, B. K. (2002). *The physiological ecology of vertebrates: a view from energetics*. Cornell University Press.
- Merritt, J. F. (1986). Winter survival adaptations of the short-tailed shrew (*Blarina brevicauda*) in an Appalachian montane forest. *Journal of Mammalogy*, 450-464.

- Merritt, J. F. (1995). Seasonal thermogenesis and changes in body mass of masked shrews, *Sorex cinereus*. *Journal of Mammalogy*, 1020-1035.
- Merritt, J. F., Zegers, D. A., & Rose, L. R. (2001). Seasonal thermogenesis of southern flying squirrels (*Glaucomys volans*). *Journal of Mammalogy*, 82(1), 51-64.
- Mory, G., Bouillaud, F., Combes-George, M., & Ricquier, D. (1984). Noradrenaline controls the concentration of the uncoupling protein in brown adipose tissue. *FEBS letters*, 166(2), 393-396.
- Munn, A. J., Kern, P., & McAllan, B. M. (2010). Coping with chaos: unpredictable food supplies intensify torpor use in an arid-zone marsupial, the fat-tailed dunnart (*Sminthopsis crassicaudata*). *Naturwissenschaften*, 97(6), 601-605.
- Nagel, A. (1977). Torpor in the European white-toothed shrews. *Experientia*, 33(11), 1455-1456.
- Nagel, A. (1985). Sauerstoffverbrauch, Temperaturregulation und Herzfrequenz bei europäischen Spitzmäusen (Soricidae). *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 50(5), 249-266.
- Ochocińska, D., & Taylor, J. R. (2003). Bergmann's rule in shrews: geographical variation of body size in Palearctic *Sorex* species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78(3), 365-381.
- Ohdachi, S. (1994). Total Activity Rhythms of Three Soricine Species in Hokkaido. *Journal of the Mammalogical Society of Japan*, 19(2), 89-99.
- Pinowski, J., & Drozd, A. (1968). Estimation of food preferences. In W. Grodzinski, & R. Z. Klekowski, *Methods of ecological bioenergetics* (pp. 207-214). Warsaw: Polish Academy of Sciences.
- Pucek, Z. (1965). Seasonal and age changes in the weight of internal organs of shrews. *Acta Theriologica*, 10(26), 369-438.
- Repenning, C. A. (1967). *Subfamilies and genera of the Soricidae*. US Government Printing Office.
- Robinson, D. E., & Brodie Jr, E. D. (1982). Food hoarding behavior in the short-tailed shrew *Blarina brevicauda*. *American Midland Naturalist*, 369-375.
- Rofes, J., & Cuenca-Bescós, G. (2011). Evolutionary history and biogeography of the genus *Crocidura* (Mammalia, Soricidae) in Europe, with emphasis on *Crocidura kornfeldi*. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 76(1), 64-78.
- Rychlik, L., & Jancewicz, E. (2002). Prey size, prey nutrition, and food handling by shrews of different body sizes. *Behavioral Ecology*, 13(2), 216-223.

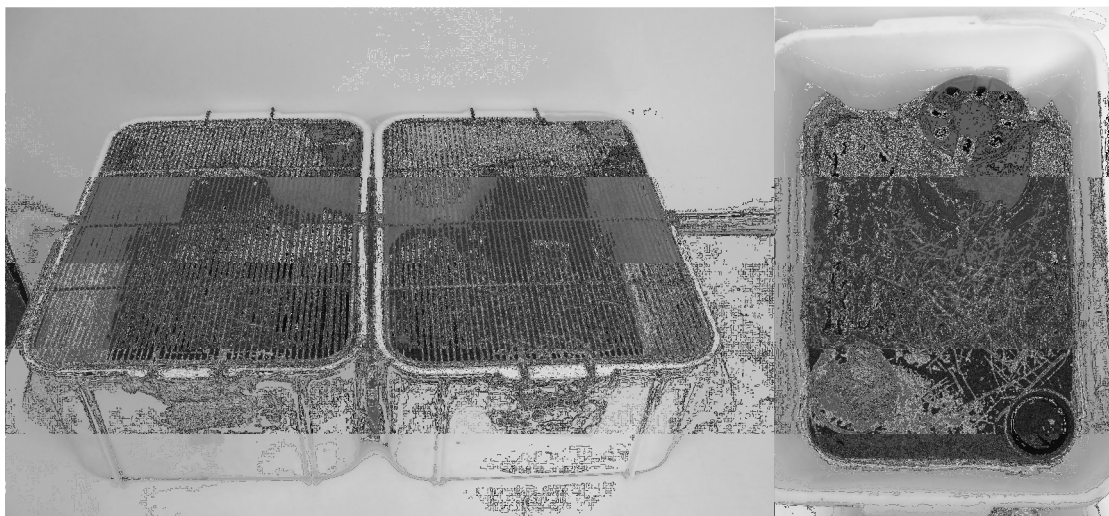
- Saarikko, J. (1989). Foraging behaviour of shrews. *Annales Zoologici Fennici*, 26(4), 411-423.
- Scholander, P. F., Hock, R., Walters, V., & Irving, L. (1950). Adaptation to cold in arctic and tropical mammals and birds in relation to body temperature, insulation, and basal metabolic rate. *The Biological Bulletin*, 99(2), 259-271.
- Sparti, A. (1992). Thermogenic capacity of shrews (Mammalia, Soricidae) and its relationship with basal rate of metabolism. *Physiological Zoology*, 77-96.
- Stamper, J. L., Dark, J., & Zucker, I. (1999). Photoperiod modulates torpor and food intake in Siberian hamsters challenged with metabolic inhibitors. *Physiology & behavior*, 66(1), 113-118.
- Taylor, J. R. (1998). Evolution of energetic strategies in shrews. *Evolution of shrews*, 30, 9-346.
- Taylor, J. R., Rychlik, L., & Churchfield, S. (2013). Winter Reduction in Body Mass in a Very Small, Nonhibernating Mammal: Consequences for Heat Loss and Metabolic Rates. *Physiological and Biochemical Zoology*, 86(1), 9-18.
- Tomasi, T. E., Hamilton, J. S., & Horwitz, B. A. (1987). Thermogenic capacity in shrews. *Journal of thermal biology*, 12(2), 143-147.
- Vogel, P. (1976). Energy consumption of European and African shrews. *Acta Theriologica*, 21(13), 195-206.
- Vogel, P., & Genoud, M. (1981). The construction and use of an artificial nest to study the wild shrew *Crocidura russula* (Mammalia, Soricidae) in its natural environment. *Journal of Zoology*, 195(4), 549-553.
- Wang, L. C., & Wolowyk, M. W. (1988). Torpor in mammals and birds. *Canadian journal of zoology*, 66(1), 133-137.
- Willis, C. K., Goldzieher, A., & Geiser, F. (2005). A non-invasive method for quantifying patterns of torpor and activity under semi-natural conditions. *Journal of Thermal Biology*, 30(7), 551-556.
- Willis, C. K. (2007). An Energy-Based Body Temperature Threshold between Torpor and Normothermia for Small Mammals. *Physiological and Biochemical Zoology*, 80(6), 643-651.
- Wojciechowski, M. S., Jefimow, M., & Tęgowska, E. (2007). Environmental conditions, rather than season, determine torpor use and temperature selection in large mouse-eared bats *Myotis myotis*. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147(4), 828-840.

- Yaskin, V. A. (1994). Variation in brain morphology of the common shrew. *Advances in Biology of Shrews*, 155-161.
- Yom-Tov, Y., & Geffen, E. (2006). Geographic variation in body size: the effects of ambient temperature and precipitation. *Oecologia*, 148(2), 213-218.
- Zhang, L., Gao, W., Jiang, W., & Wang, Z. (2012). The relationship among metabolic rate of tree shrews (*Tupaia belangeri*) under cold acclimation. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 8(4), 226-235.

ANEXOS



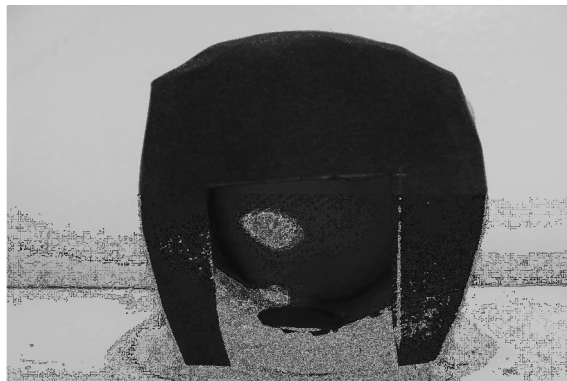
Anexo 1. Dois *C. russula* capturados e aclimatizados à condições de verão (macho em cima, fêmea em baixo).



Anexo 2. Exemplo de terrários onde os animais foram colocados.



Anexo 3. Incubadora onde os *C. russula* foram colocados nas experiências de capacidade termogénica (à direita), e aparelho de medição do consumo de oxigénio (à esquerda).



Anexo 4. Exemplo de um ninho utilizado nas experiências de atividade. De notar o *datalogger* fixado na base do ninho.



Anexo 5. Experiência de atividade em condições controladas a decorrer. À esquerda nota-se a luz vermelha (canto superior esquerdo), a câmara digital e dois aquários lado a lado. À direita, pode-se observar os pratos de comida e água, e o animal de teste fora do ninho a comer.